

**Univerzita Karlova v Praze**

**1. lékařská fakulta**

Studijní obor: Experimentální chirurgie



**MUDr. et MUDr. Marek Vlk**

## **Diagnostika a terapie vybraných malignit a premalignit hlavy a krku fotonickou medicínou**

**Diagnostics and therapy of selected head and neck malignancies and premalignancies  
with photonic medicine**

Typ závěrečné práce

(Disertační)

Vedoucí závěrečné práce/Školitel: prof. MUDr. Jiří Mazánek, DrSc.

Konzultant: doc. Roman Šmucler, CSc.

Praha, 2013

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem řádně uvedl a citoval všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze své práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 09.04.2013

Marek Vlk

Podpis:

Disertační práce vznikla za velmi kvalitního odborného vedení a konzultací hlavního školitele prof. MUDr. Jiřího Mazánka, DrSc. a odborného školitele doc. Romana Šmuclera, CSc., kterým si dovoluji touto cestou poděkovat. Za ochotnou pomoc a rady děkuji doc. Renému Foltánovi, Ph.D. (Klinika ústní, čelistní a obličejové chirurgie VFN a 1. LF UK). Za statistické zpracování dat děkuji RNDr. Jaromíru Běláčkovi, CSc. (Ústav biofyziky a informatiky, 1. LF UK v Praze).

# Obsah

Obsah.....	4
Abstrakt .....	7
1. Úvod.....	8
1.1. Obecný úvod .....	8
1.2. Použité statistické metody .....	9
2. Laser .....	10
2.1. Definice laseru.....	10
2.2. Historie .....	10
2.3. Základní vlastnosti .....	11
2.4. Princip .....	12
2.5. Základní součásti laserů .....	13
2.6. Laserové parametry .....	13
2.7. Laserové režimy .....	15
2.8. Interakce laser - tkáň .....	16
2.9. Typy a použití laserů .....	18
2.10. Laserová bezpečnost .....	19
3. Prekancerózy .....	22
3.1. Prekancerózy a jejich rozdělení.....	22
3.2. Leukoplakie („ČÁST A“).....	22
3.2.1. Definice a maligní potenciál .....	22
3.2.2. Incidence, etiologické faktory .....	24
3.2.3. Prevence .....	24
3.2.4. Terapie.....	25
3.2.5. Klasifikace a staging .....	26
3.3. Leukoplakie - hypotézy a cíle práce.....	27
3.3.1. Hypotézy .....	27
3.3.2. Cíle práce.....	27
3.4. Materiál a metodika - leukoplakie.....	28
3.5. Výsledky - leukoplakie.....	31
3.5.1. Objektivní hodnocení .....	31
3.5.1.1. Sledování recidiv po primární terapii.....	31
3.5.1.2. Sledování všech recidiv .....	33
3.5.2. Subjektivní hodnocení .....	36
3.5.3. Kazuistiky.....	39
3.6. Diskuse - leukoplakie .....	41
3.7. Závěr – leukoplakie .....	42
4. Laserová intersticiální hypertermie (laserem-indukovaná termoterapie, LITT).....	44
4.1. Minimálně invazivní metody .....	44
4.2. Laserová intersticiální hypertermie („ČÁST B“).....	44
4.2.1. LITT: definice, obecné aspekty.....	44
4.2.2. LITT: historie .....	44
4.2.3. LITT: princip .....	45
4.2.4. Lasery používané při LITT .....	46
4.2.5. Indukce koagulační nekrózy.....	46
4.2.6. Tkáňové efekty: morfologická architektura .....	47
4.2.7. LITT a zobrazovací techniky .....	49
4.2.8. Klinické využití .....	50
4.2.8.1. Jaterní nádory (metastázy) .....	50
4.2.8.2. Nádory mozku .....	51

4.2.8.3. Urologie.....	51
4.2.8.4. Kolorektální karcinom.....	52
4.2.8.5. Nádory hlavy a krku.....	52
4.2.8.5.1. Nádory hlavy a krku: úvod.....	52
4.2.8.5.2. LITT a nádory hlavy a krku .....	52
4.3. Hypotézy a cíle LITT .....	53
4.3.1. Hypotézy .....	53
4.3.2. Cíle .....	53
4.4. Materiál a metodika LITT .....	54
4.4.1. Charakteristika souboru pacientů .....	54
4.4.2. Metodika LITT .....	58
4.5. Výsledky LITT .....	61
4.5.1. Subjektivní hodnocení parametrů stížnosti pacienta .....	61
4.5.2. Klinické hodnocení léčebného efektu .....	62
4.5.3. Komplikace .....	63
4.5.4. Úmrtí .....	64
4.5.5. Statistické zhodnocení LITT podle 9 sledovaných parametrů .....	65
4.6. Diskuse LITT .....	66
4.7. Závěr LITT .....	68
5. Fotodynamická terapie („ČÁST C“) .....	70
5.1. Fotodynamická terapie (PDT): obecné aspekty .....	70
5.1.1. Úvod a definice PDT .....	70
5.1.2. Historie PDT .....	70
5.1.3. Obecný princip PDT.....	71
5.1.4. Fotosenzibilizátory .....	72
5.1.5. Zdroje světla sloužící k aktivace fotosenzibilizátoru .....	75
5.1.6. Klinické aplikace - využití .....	75
5.1.7. Systémová fotodynamická terapie (iPDT) .....	78
5.1.7.1. Úvod a princip iPDT .....	78
5.1.7.2. Výhody a nevýhody iPDT.....	79
5.1.7.3. Dodávka světla - aktivace fotosenzibilizátoru při iPDT .....	80
5.1.7.4. iPDT v chirurgii hlavy a krku .....	81
5.1.8. Diagnostika a fluorescence.....	84
5.1.8.1. Fluorescenční spektroskopie .....	85
5.1.8.2. Diagnostika - využití ultrazvuku při PDT .....	86
5.1.9. Bazocelulární karcinom (bazaliom, BCC) .....	86
5.1.9.1. Úvod, obecné aspekty .....	86
5.1.9.2. Terapie BCC.....	87
5.2. Hypotézy a cíle práce .....	88
5.2.1. Hypotézy .....	88
5.2.2. Cíle práce.....	88
5.2.2.1. PDT studie I .....	89
5.2.2.2. PDT studie II .....	89
5.3. PDT studie I .....	90
5.3.1. Materiál a metodika.....	90
5.3.1.1. Charakteristika souboru pacientů .....	90
5.3.1.2. Metodika.....	91
5.3.2. Výsledky.....	93
5.3.2.1. Subjektivní hodnocení.....	93
5.3.2.2. Objektivní hodnocení .....	93

5.4. PDT studie II .....	95
5.4.1. Materiál a metodika.....	95
5.4.1.1. Charakteristika souboru pacientů .....	95
5.4.1.2. Metodika.....	98
5.4.1.2.1. Terapeutický plán - 1. fáze .....	98
5.4.1.2.2. Terapeutický plán - 2. fáze .....	99
5.4.1.2.3. Terapeutický plán - 3. fáze .....	99
5.4.1.2.4. Kontroly .....	100
5.4.2. Výsledky.....	100
5.4.2.1. Subjektivní hodnocení .....	100
5.4.2.2. Objektivní hodnocení .....	101
5.5. Diskuse PDT .....	103
5.6. Závěr PDT .....	106
6. Experimentální část .....	107
6.1. Hojení kůže .....	107
6.1.1. Úvod a cíle .....	107
6.1.2. Metodika.....	107
6.1.3. Výsledky.....	109
6.1.4. Závěr.....	112
6.2. Experiment: reakce tkáně na působení laseru (výkon laseru/čas působení laseru).....	113
6.2.1. Úvod a cíle .....	113
6.2.2. Metodika.....	113
6.2.2.1. Experimentální vzorek .....	113
6.2.2.2. Příprava vzorků .....	113
6.2.2.3. Experimentální fáze.....	114
6.2.2.4. Zpracování vzorků.....	114
6.2.3. Výsledky.....	115
6.2.4. Závěr a klinické využití .....	116
7. Kazuistiky iPDT .....	118
7.1. Úvod.....	118
7.2. Indikace .....	118
7.3. Materiály a metodika.....	119
7.4. Fotosenzitivita pacientů.....	120
7.4.1. Zatemnění (po aplikaci Foscanu <sup>®</sup> ) .....	120
7.5. Hodnocení .....	120
7.6. Kazuistiky.....	121
7.7. Závěr.....	124
8. Závěr.....	125
9. Literatura .....	126
Seznam publikací doktoranda .....	133
Ocenění.....	134

## Abstrakt

### **Diagnostika a terapie vybraných malignit a premalignit hlavy a krku fotonickou medicínou.**

Úvod: Lasery nacházejí široké uplatnění v moderní medicíně, chirurgie hlavy a krku není výjimkou. Naším cílem bylo zhodnotit využití laserové intervence při léčbě leukoplakií, v průběhu laserové intersticiální hypertermie (LITT) a v modifikaci fotodynamické terapie (PDT).

Materiály a metodika: Ve všech indikacích jsme použili diodový laser s vlnovou délkou 980 nm. Laserovou vaporizací bylo léčeno celkem 76 lézí leukoplakií u 66 pacientů. LITT byla aplikována u 32 onkologických pacientů s nádory hlavy a krku v pokročilém stádiu onemocnění (sledováno bylo 9 parametrů). Laserem modifikovanou PDT bylo léčeno celkem 74 lézí BCC (sBCC/nBCC) u 33 pacientů. Sledováno bylo nejen objektivní hledisko (efektivita terapií), ale i subjektivní hodnocení léčby samotnými pacienty.

Výsledky: Úspěšnost léčby leukoplakií byla 94,7 %. LITT pozitivně ovlivnila všech 9 sledovaných parametrů. Výsledná efektivita PDT byla taktéž pozitivně ovlivněna laserovou intervencí. Úspěšnost kombinované metody (vztaženo k počtu lézí) byla u sBCC téměř u 98 %, u nBCC 92 %. Laserovou intervencí v našich indikacích snášeli pacienti obecně velmi dobře.

Závěry: Dosáhli jsme úspěšných výsledků jak v terapii leukoplakií, tak při modifikované fotodynamické terapii v léčbě BCC. Pozitivní změny sledovaných parametrů ukazují, že LITT najde své uplatnění v paliativní terapii pacientů s pokročilými nádory hlavy a krku. Laserová intervence při vhodné indikaci může být úspěšně využita v terapii vybraných premaligních a maligních onemocnění hlavy a krku.

### **Diagnostics and therapy of selected head and neck malignancies and premalignancies with photonic therapy (PDT)**

Introduction: Lasers are used widely in the modern-day medicine, including the head and neck surgery. Our objective was to evaluate the use of laser intervention in leucoplakia treatment, during the laser interstitial hyperthermia (LITT) and in the modification of PDT.

Materials and methods: In all the indications, the diode laser emitting at the wavelength 980 nm was used. Altogether we treated 76 leucoplakia lesions in 66 patients by laser vaporization. LITT was applied in 32 oncological patients with more-advanced-stage head and neck tumors (9 parameters were observed). 74 BCC (sBCC/nBCC) lesions in 33 patients were treated with modified PDT. We observed not only the objective aspects (the efficacy of the treatment) but also the subjective therapy evaluation by the patients themselves.

Results: The efficacy of the leucoplakia treatment was 94,7 %. LITT influenced positively all the 9 observed parameters. The resultant efficacy of the PDT was influenced positively by the laser intervention too. The success rate of the combined method was almost 98 % for sBCC and 92 % for nBCC (measured by the number of lesions). The laser intervention was tolerated very well by the patients.

Conclusion: We accomplished successful results both in the leucoplakia therapy and in the modified PDT in the BCC treatment. As shown by the positive changes of the observed parameters, LITT can be applied in the palliative treatment in patients with advanced head and neck tumors. The laser intervention, when indicated appropriately, can be successfully used in the treatment of selected premalignant and malignant head and neck diseases.

# 1. Úvod

## 1.1. Obecný úvod

Lasery nacházejí v moderní medicíně široké uplatnění téměř ve všech oborech všeobecného lékařství. V tomto směru nezaostává ani obor zubního lékařství, včetně jeho specializace dentoalveolární a maxilofaciální chirurgie.

Již v dobách Stomatologické kliniky Všeobecné fakultní nemocnice v Praze (konkrétně v rámci její lůžkové části) fungovala řadu let „laserová poradna“. Náplní této poradny byl progresivně se rozvíjející obor, tj. laserová medicína. Laserová poradna poskytovala rozsáhlou a pestrou léčebnou péči, která se zaměřovala nejen na nenádorová onemocnění (tj. estetickou medicínu), ale i na nádorová onemocnění zahrnující benigní i maligní novotvary.

Historickým mezníkem pro laserovou poradnu se stalo jaro 2006. V rámci Všeobecné fakultní nemocnice v Praze došlo k prohloubení mezioborové spolupráce mezi orální a maxilofaciální chirurgií, dermatologií a ORL, a tak z laserové poradny vzniklo vysoce specializované pracoviště Centrum fotonické medicíny (CFM, viz obr. 1.1.). Tyto odlišné lékařské obory v rámci centralizované péče spolu velmi úzce spolupracují, a CFM se tak stalo se svým zaměřením a poskytovanou péčí unikátním a jediným pracovištěm svého druhu v celé České republice.

V září 2012 po rozdělení Stomatologické kliniky VFN bylo Centrum fotonické medicíny začleněno pod hlavičku Kliniky ústní, čelistní a obličejové chirurgie (KUČOCH).



Obr. 1.1: Centrum fotonické medicíny

Jako postgraduální student s laserovou tematikou pod vedením hlavního školitele prof. MUDr. Jiřího Mazánka, DrSc. a odborného školitele doc. MUDr. Romana Šmuclera, CSc. jsem měl možnost a nemalou měrou se i podílel na rozvoji laserové poradny a poté na zřízení a fungování Centra fotonické medicíny.

Téma této disertační práce (tj. Diagnostika a terapie vybraných malignit a premalignit hlavy a krku fotonickou medicínou) je velmi obšírné a rozsáhlé. Proto jsem se zaměřil na 3 hlavní témata - laserové odstranění orálních leukoplakií, laserovou intersticiální hypertermii a



laserem modifikovanou fotodynamickou terapii při léčbě bazocelulárních karcinomů. Společná všem tematickým okruhům byla indikace laserové terapie, konkrétně se jednalo o léčbu s použitím diodového laseru. Z prekanceróz dutiny ústní se v CFM setkáváme a zároveň se specializujeme na problematiku leukoplakií. Mezi kožní nádory, které nejčastěji léčíme v Centru fotonické medicíny, bezesporu patří bazocelulární karcinomy. U zhoubných novotvarů je laserová intervence mimo jiné indikována v paliativní terapii, v našich indikacích se jednalo o využití laserové intersticiální hypertermie u pacientů s pokročilým (III. nebo IV. stádium) nádorovým onemocněním hlavy a krku. Tato témata tedy nebyla zvolena jen náhodně, ale zcela záměrně. Jedná se o onemocnění (prekancerózy a novotvary), s kterými se v rámci léčby nebo dispenzarizace setkáváme v Centru fotonické medicíny nejčastěji a s kterými máme již dlouholeté zkušenosti.

Disertační práce je rozdělena do několika kapitol. V první části (2. kapitola) se v obecném měřítku věnujeme základním informacím týkajícím se laserů. V druhé části se již zaměřujeme na hlavní témata této práce. Pro lepší přehlednost jsme je rozdělili na „část A“, kde se zabýváme tématem orálních leukoplakií (3. kapitola); „část B“, kde se zaměřujeme na laserovou intersticiální hypertermii aplikovanou u onkologických pacientů (4. kapitola). A konečně „část C“, kde se zabýváme modifikací fotodynamické terapie v léčbě bazocelulárních karcinomů (podle charakteru našeho zásahu do fotodynamické terapie jsme provedli 2 studie, viz. PDT studie I a PDT studie II). Další kapitola (6. kapitola) je věnována čistě experimentální části a je cílena na sledování hojení kůže a reakci tkáně na působení laseru. Intersticiální fotodynamickou terapii jsme věnovali 7. kapitolu, jde o kazuistiky 4 pacientů a jedná se o vůbec první operace s použitím Foscanu<sup>®</sup> jako fotosenzibilizátoru na území České republiky.

## 1.2. Použité statistické metody

Statistická významnost výsledků obsažená v tabulkách byla posouzena a vyhodnocena dvěma alternativními způsoby:

- Procenta založená na náhodných výběrech pacientů nebo lézí klasifikovaných do skupin byla porovnáвана prostřednictvím standardních  $\chi^2$ -testů homogenity v kontingenčních tabulkách (obvykle čtyřpolních). U tabulek s více než dvěma řádky či sloupci bylo provedeno ještě vyhodnocení tzv. adjustovaných (standardizovaných) reziduí, které identifikují statisticky významné odchylky na úrovni individuálních procentuálních hodnot.
- Data reprezentující subjektivní hodnocení pacientů event. proměnné spojitého charakteru (výkony [W], hojení [dny], věk [roky]) byla hodnocena dvouvýběrovými (nepárovými) t-testy (pro porovnání výsledků ve dvou skupinách), eventuálně testem Mann-Whitney (M-W) anebo prostřednictvím One-Way ANOVA (pro porovnání výsledků zákroků v šesti lokalitách) s následným párovým srovnáváním (Fischerův LSD post-hoc test).

Všechny testy byly kvalifikovány na hladině statistické významnosti 95 %, tzn., že výsledky jsou prezentovány vesměs pro  $p < 0,05$  (obvykle s hodnotami příslušných testových statistik). Výpočty byly provedeny s použitím programů SPSS (ver. 17.0), resp. Statistica (ver. 10.0) licencovaných v oddělení BioStat při ÚBI 1.LF UK Praha.

## 2. Laser

### 2.1. Definice laseru

Název LASER je akronymem z anglického „Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation“, přeloženo do češtiny „zesílení světelného paprsku stimulovanou emisí záření“. Principiálně se jedná o úzký světelný svazek koherentního a monochromatického elektromagnetického vlnění, opticky vnímaného jako světelný paprsek. Na rozdíl od světla viditelného je z laseru vyzařováno světlo koherentní a monochromatické [1, 2, 3, 4].

### 2.2. Historie

Základní teorii „Stimulované emise záření“ popsal již v roce 1916 Albert Einstein ve své publikaci o kvantové teorii [5].

První funkční laser v historii na bázi rubínového krystalu byl sestaven roku 1960 Theodorem H. Maimanem v USA, který tak předvedl první funkční laser. Einsteinovy teorie tak byly převedeny do praxe až po celých 43 letech [6]. V roce 1954 se podařilo navodit stimulovanou emisi v mikrovlnné oblasti vlnových délek. Schawlow a Townes (Massachusetts Institute of Technology) sestrojili tzv. MASER (Microwave Amplification by Stimulated Emission of Radiation) [7]. Akronym „laser“ vytvořil již v roce 1957 Gordon Gould jako zkratku pro „zesílení světla vynucenou emisí záření“. V roce 1957 si napsal své myšlenky a definice do svého notesu, ale nepublikoval je v žádném vědeckém časopise. Patent získali Schawlow a Townes. Gould byl schopen zajistit řadu patentů na laserové pojmy a aplikace začínající v roce 1977 [8].

První klinickou oblastí, kam lasery pronikly, byla oftalmologie. V roce 1962 Charles J. Campbell poprvé operuje laserem odchlípenou sítnici [9]. V roce 1962 začíná s aplikacemi na kůži Leon Goldman a v roce 1963 poprvé použil rubínový laser v dermatologii [10].

V roce 1964 C. Kumar N. Patel vynalezl plynový CO<sub>2</sub> laser [11]. Příchodem CO<sub>2</sub> laseru s kontinuální vlnovou délkou se začaly lasery prosazovat i ve všeobecné chirurgii. Pro operační výkony byly přínosem schopnosti laseru současně řezat a kauterizovat.

Nezávisle na sobě pracovali Nikolaj Basov a Alexandr Prochorov na kvantovém oscilátoru a vyřešili problém nepřetržitého výstupu záření. V roce 1964 Charles Townes, Nikolaj Basov a Alexandr Prochorov obdrželi Nobelovu cenu za fyziku - „za zásadní výzkum v oboru kvantové elektroniky, který vedl ke konstrukci oscilátoru a zesilovačů založených na principu maserů a laserů“ [1].

Dalším technickým pokrokem, který umožnil širší využití laserů v medicíně, byl vývoj optických vláken, které sloužily k dodání laserového světla o vysoké intenzitě do vzdálených míst na povrchu i uvnitř těla [12]. V roce 1972 bylo vyrobeno první monofilamentózní flexibilní světelné vlákno [10].

V současné době nachází laser uplatnění téměř ve všech oblastech medicíny (jak v léčbě, tak ve výzkumu) a patří mezi velmi dynamicky se rozvíjející odvětví. Lasery hrají

významnou roli v oftalmologii, chirurgii, dermatologii a zubním lékařství a také v mnoha dalších oborech [13].

Nejvýznamnější události z historie lékařského využití laseru jsou shrnuty v tabulce 2.1. [12].

Tabulka 2.1.: Historie laseru

Rok	Jméno	Historie laseru
1917	A. Einstein	formulace základů laserové fyziky
1954	Schawlow, Townes, Prochorov, Basov	sestrojen MASER - mikrovlnný zesilovač stimulované emise
1960	Maiman	zesílení světla pomocí stimulované emise LASER
1961	Javan	první plynový laser se směsnou náplní helia a neonu
1961	Campbell	poprvé použil rubínový laser v oftalmologii
1963	Goldman	poprvé použil rubínový laser v dermatologii
1965-1967	Polanyi	uskutečnil první pokusy s CO <sub>2</sub> laserem v medicíně
1968	Kaplan	zavedení excizních technik v medicíně CO <sub>2</sub> laserem
1973	Nath, Kiefhaber	poprvé použili vodivé vlákno při endoskopii trávicího ústrojí u zvířete
1964	Geusic	poprvé použil argonový a Neodym:YAG laser (vlnové délky 1064 nm)
1967	E. Mester	první publikace o stimulačním účinku neinvazivního laseru
1975	Frühmorgen, Dwyer	použili argonový laser k zastavení žaludečního krvácení
1975	Kiefhaber	použil Nd:YAG laser k zastavení žaludečního krvácení
1979	Choy	pomocí laseru rekanalizoval obliterované cévy postižené aterosklerózou
1980	Noe	provedl kontrolovanou studii při využití argonového laseru k léčbě port-wine-stains

(Převzato: *Brychta P, Stanek J et al. Laserová estetická chirurgie. Galén. 2000.*)

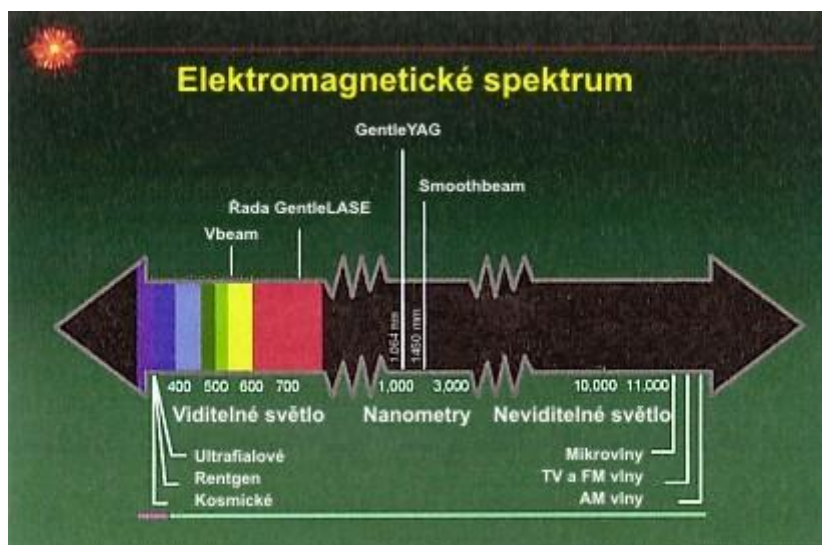
## 2.3. Základní vlastnosti

Lasery jsou zdrojem elektromagnetického záření od ultrafialové až po infračervenou spektrální oblast (viz obr. 2.1.). Základními charakteristickými vlastnostmi jsou koherence, vysoká intenzita, monochromaticnost a malá rozbíhavost.

- Koherence - organizovanost záření v čase - znamená, že elektromagnetické vlny světelných paprsků jsou ve stejné fázi navzájem v prostoru a čase. Koherentní povaha laserového záření je odvozena od jeho generace vynucenou emisí, to znamená, že emitované fotony jsou přesně ve fázi se stimulujícím fotonem. Koherence je nejzákladnější vlastnost laseru a odlišuje jej od světla z jiných zdrojů.
- Jas nebo intenzita. Tato vlastnost vyplývá z paralelity a kolimace laserového světla, pohybuje se v prostoru a udržuje svoji koncentraci. Schopnost vysoké

kolimovatelnosti umožňuje minimální ztráty energie při přenosu a její vysokou koncentraci.

- Monochromaticnost - čistota záření, pokud jde o vlnovou délku - znamená, že všechny fotony mají stejnou vlnovou délku. To kontrastuje s typickou žárovkou, která vydává vlnové délky celého spektra, obvykle vlnové délky od ultrafialové přes viditelné až do infračervené oblasti.
- Směrovost - rovnoběžnost. Existuje jen málo divergence laserového paprsku na výstupu laserového zařízení a paprsek může táhnout na značnou vzdálenost s velmi malým pohybem od rovnoměrnosti. [3, 12, 14]



Obr. 2.1.: Elektromagnetické spektrum

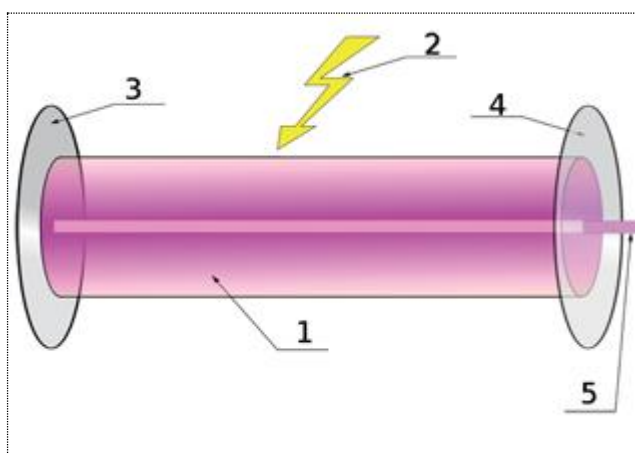
(Převzato: [http://www.laser-centrum-brno.cz/clanky/images/fyzika\\_laseru01.jpg](http://www.laser-centrum-brno.cz/clanky/images/fyzika_laseru01.jpg))

## 2.4. Princip

Elektrony v atomu nebo molekule existují ve velmi specifické energetické úrovni (tzv. stavy). Každý atom má uspořádání elektronů charakteristické pro specifický prvek nebo kombinace prvků. Kvantovým přechodem rozumíme přechod atomu nebo molekuly z jednoho stavu (hladiny) do jiného. Je-li atom ve vyšším stavu a přechází do stavu nižšího, pak může být emitována energie jako foton elektromagnetického záření. Na druhé straně, je-li atom nejprve v nižším stavu ( $E_1$ ) a přechází do vyššího stavu ( $E_2$ ), pak se energie (záření) absorbuje. Pokud elektron přechází do vyššího stavu (hladiny), pak hovoříme o excitovaném stavu. Tato vyšší hladina je nestabilní a elektron má tendenci vzdát se energie ve formě fotonu, která je rovna rozdílu energie mezi oběma stavy, a vrátit se na hladinu stabilnější (tj. na nižší stav). K emisi fotonu může dojít dvěma způsoby, spontánní nebo stimulovanou emisí. Spontánní emise nastane tehdy, když atomy na úrovni  $E_2$  mají tendenci přecházet do úrovně  $E_1$  spontánně (bez jakéhokoliv podnětu). Stimulovaná emise proběhne, pokud je přechod z úrovně  $E_2$  do  $E_1$  způsoben emisí fotonu, pak i indukující a indukované fotony mají energii rovnou  $E_2 - E_1$ , stejný směr a polarizaci [3].

## 2.5. Základní součásti laserů

Laser se obecně skládá z následujících komponent: zevní energetický zdroj a optický rezonátor (vlastní generátor optického zařízení), řídicí jednotka a systém přenášející paprsek k ošetřované tkáni (světlovod, kloubové rameno apod.) [12]. Ve většině laserů světlo opakovaně prochází tzv. rezonátorem, jedná se o optickou dutinu, která je vymezená zrcadly. Nejčastěji je rezonátor opatřen dvěma zrcadly, z nichž jedno je zcela nepropustné a druhé částečně propustné. Aktivní prostředí je látka obsahující oddělené kvantové energetické hladiny elektronů, může se jednat o plyn, monokrystal, polovodič, organická barviva, polovodičové multivrstvy, volné elektrony. Příslušenství zahrnuje součásti pro optické čerpání aktivního prostředí, chladič, součásti pro měření výkonu, kalibraci, příp. nelineární krystal měnící vlnovou délku [1]. Základní součásti laseru ukazuje obr. 2.2.



Obrázek 2.2. Konstrukce laseru:

1. Aktivní prostředí
2. Zdroj záření
3. Odrazné zrcadlo
4. Polopropustné zrcadlo
5. Laserový paprsek

(Převzato z <http://cs.wikipedia.org/wiki/Soubor:Laser.svg>)

## 2.6. Laserové parametry

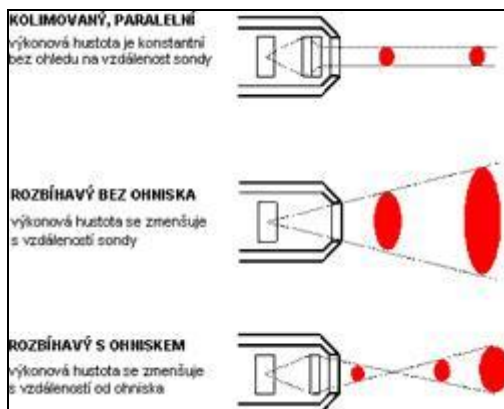
Světlo je elektromagnetické záření, které pokrývá široké spektrum od rádiových vln s vlnovými délkami metru a více až po rentgenové paprsky s vlnovou délkou menší než miliardtina metru. Viditelné světlo v elektromagnetickém spektru zaujímá střední pozici a zahrnuje obě formy chování, tj. jak částicové (typické pro kratší vlnové délky, energie je nesena částicí zvanou fotony), tak vlnové (typické pro delší vlnové délky) [10, 14].

Elektromagnetické záření emitované lasery popisujeme následujícími parametry [1, 3, 10, 15]:

Tvar paprsku (obr. 2.3.)

- Tvar paprsku je popisován velikostí plochy ( $S$ ) stopy paprsku na výstupu laseru. Udává se v  $\text{cm}^2$  nebo  $\text{mm}^2$ .

- Tvar paprsku je určen tvarem zrcadla rezonátoru, případně optickou soustavou na výstupu laseru.

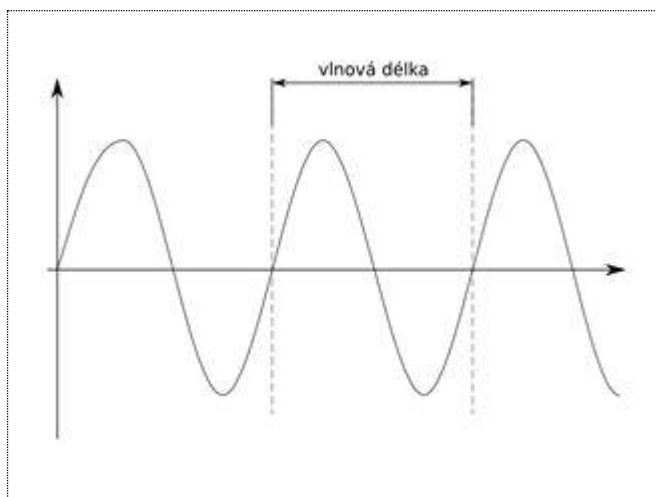


Obr. 2.3. Tvar paprsku laseru

(Převzato z <http://www.therapy.cz/fyzikalni-parametry.laseru.php>)

Vlnová délka (obr. 2.4.)

- Vlnová délka je nejdůležitějším determinantem, jde o základní parametr laserového záření.
- Je to vzdálenost mezi dvěma po sobě jdoucími vrcholy vlny (vzdálenost dvou nejbližších bodů vlnění, které kmitají ve fázi).
- Každý typ laseru má určitou vlnovou délku v závislosti na povaze aktivního prostředí (laserového media).
- Hodnoty jsou měřeny v jednotkách délky: nanometrech (nm),  $1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$  nebo mikrometrech ( $\mu\text{m}$ ),  $1 \mu\text{m} = 10^{-6} \text{ m}$ .



Obr. 2.4.: Vlnová délka

(Převzato z [http://cs.wikipedia.org/wiki/Soubor:vlnova\\_delka.png](http://cs.wikipedia.org/wiki/Soubor:vlnova_delka.png))

### Výkon

- Výkon je energie vztažená na jednotku času (J/s). Hodnoty výkonu jsou udávány ve W (watt) nebo mW (miliwatt),  $1\text{ W} = 1\,000\text{ mW}$ . Udává se špičková a střední hodnota optického výkonu.

### Výkonová hustota

- Výkonová hustota paprsku je výkon působící na jednotku plochy paprsku (S), udává se ve  $\text{W/m}^2$  či v  $\text{mW/mm}^2$ ;  $1\text{ W/m}^2 = 0,001\text{ mW/mm}^2$ .

### Modulační frekvence

- Modulační frekvence paprsku udává počet kmitů za sekundu Hz (hertz).

### Energie

- Energii měříme v joulech (J). Jedná se o energii, která je vyzářena optickým zdrojem. Je to výkon působící po určitou dobu,  $1\text{ J} = 1\text{ W} \times 1\text{ s}$

### Energetická hustota

- Dávku laseru vyjadřujeme pomocí tzv. energetické hustoty.
- Energetická hustota paprsku je energie, která působí na jednotku plochy paprsku (P). Udává se v  $\text{J/cm}^2$ .
- Energetická hustota (terapeutická) je energie, která působí na jednotku ošetřované plochy (P). Udává se v  $\text{J/cm}^2$ . Stanovuje absorbovanou energii v určité cílové oblasti.

### Expozice a délka pulzu

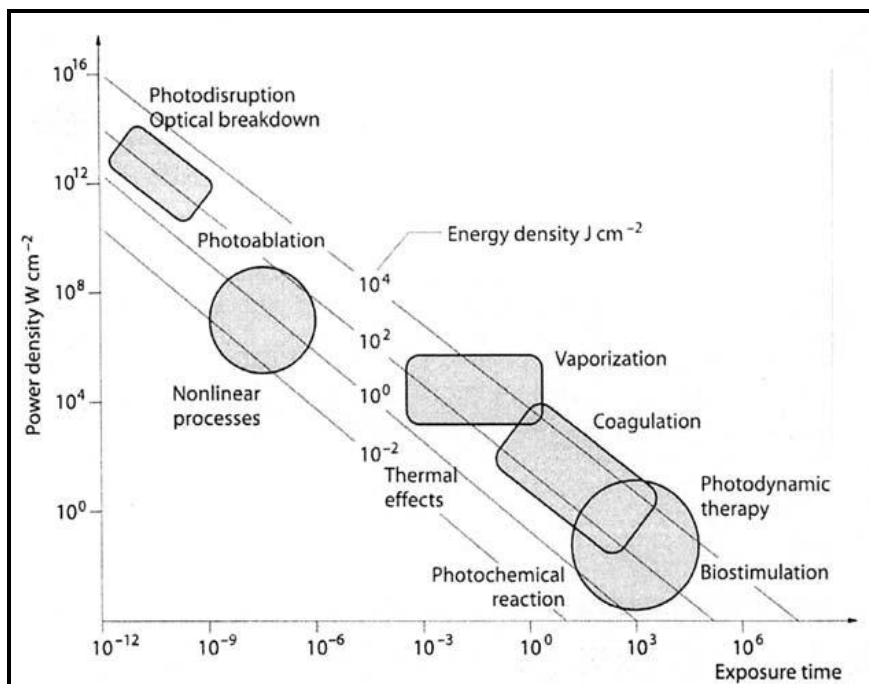
- Expozice je obvykle udávána ve  $\text{W/cm}^2$ , jde o výkon dodávaný na jednotku plochy.
- Délka pulzu je mimořádně důležitá, označuje dobu, po kterou je energie dodávána do cílové tkáně. Udává se v jednotkách ms (milisekundy),  $\mu\text{s}$  (mikrosekundy) a ns (nanosekundy).

## 2.7. Laserové režimy

Lasery mohou pracovat v několika režimech (časový režim paprsku). V kontinuálním režimu je laserový výstup zachován nepřetržitě, dostaneme tak souvislý laserový paprsek. V kvazipulzním režimu je laserový paprsek emitován jako kontinuální, ale jeho tok je zpravidla clonou přerušován tak, aby působil na tkáň jako pulzní (nelze tak však dosáhnout extrémně krátkých impulsů s vysokou energií). V kvazikontinuálním režimu je laserový paprsek emitován jako pulzní, ale frekvence je tak vysoká (např. kHz), že působení na tkáň se blíží kontinuálnímu paprsku. V pulzním režimu je laserový paprsek emitován v jednotlivých pulzech. To má význam, pokud chceme být šetrní a selektivní, neboť z místa, které chceme zasáhnout, se mezi jednotlivými pulzy odvádí zbytkové teplo do okolí kondukci, popřípadě je ho možno neutralizovat nějakým typem chlazení (dynamické, kontaktní, vzduchem apod.). Terapeuticky lze využít i postupné hromadění tepla v cílové tkáni zmenšením intervalu mezi impulsy [10].

## 2.8. Interakce laser - tkáň

Když laserové světlo dopadá na povrch tkáně, může se odrazit, lámat, rozptýlit, absorbovat nebo přenášet. K jakému procesu dojde, závisí jak na optických vlastnostech tkáně, tak na laserových parametrech. Záření se může zcela změnit díky prostorovému rozložení tkáně, a to v důsledku odrazu, lomu a ohybu [3, 16].



Obr. 2.5. Různé typy laser/tkáň interakce v závislosti na hustotě výkonu a době expozice.  
(Převzato: **Knappe V, Frank F, Rohde E. Principles of Lasers and Biophotonic Effects. Photomed Laser Surg 2005;22:411-417.**)

Účinek laseru na tkáň je dán kombinací specifických vlastností laserového paprsku, které jsou definovány jeho vlnovou délkou a vlastnostmi tkáně, jako je její hustota, obsah vody a pigmentů. Každá molekula tkáně totiž absorbuje záření o specifické vlnové délce. Hemoglobin absorbuje záření při vlnové délce 600 nm, voda při 2950 nm. Průnik laserového záření do tkáně by byl v indiferentních podmínkách přímo úměrný vlnové délce, v praxi však bývá modifikován právě vlastnostmi tkáně a jeho absorpcí ve vodě. Interakční mechanismus (viz obrázek 2.5.) sozařovanou tkání může být následující: fotochemický, fototermální, fotoablativní a fotoplazmatický [4]. Mezi vlastnosti tkáně, které ovlivňují interakce laser - tkáň, můžeme jmenovat strukturu tkáně, obsah vody, krevní oběh atd. Vlastnosti laseru, které ovlivňují interakci laser - tkáň, jsou výkon, hustota energie a zejména vlnová délka [16].

Laserové záření různých vlnových délek je v lidské tkáni různě absorbováno. Podle hloubky uložení tkání, které hodláme stimulovat (kde dochází k laserové intervenci), volíme vlnovou délku použitého laseru. Úbytek výkonové hustoty (energetické hustoty) ve tkáni způsobený absorpcí se řídí Lambert-Beerovým zákonem.

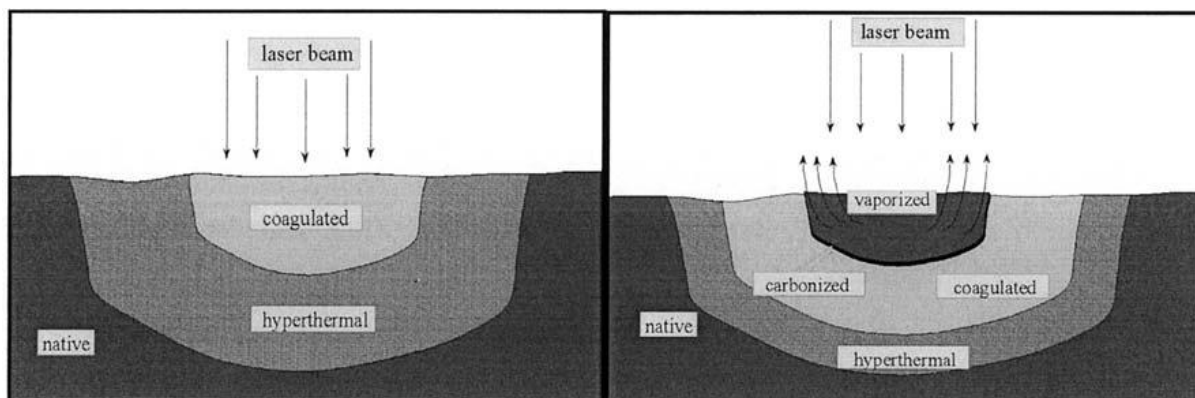
$$P = P_0 \cdot e^{-\mu \cdot L},$$



resp. **P** - výkonová hustota (energetická hustota) laserového záření v hloubce **L**; **P<sub>0</sub>** - výkonová hustota (energetická hustota) laserového záření před vstupem do tkáně; **μ** - koeficient absorpce (je určen vlnovou délkou); **e** - Eulerovo číslo (základ přirozených logaritmů; matematická konstanta 2,71828), **L** - hloubka ve tkáni. Pro používané vlnové délky byly stanoveny koeficienty absorpce **μ** experimentálně. Na základě těchto hodnot byl stanoven průnik laserového záření pro nejčastěji používané vlnové délky [15].

Fotochemický mechanismus účinku nastává při nízké hustotě výkonu (0,1-10 W/cm<sup>2</sup>) s extrémně dlouhou interakcí času. Při fotochemické transformaci dochází k absorpci světla bez primárního ohřevu tkáně, tedy k chemickým reakcím na makromolekulární úrovni. Nejvýznamnějším příkladem uplatnění je fotodynamická terapie (tkáň je zničena po aktivaci fotosenzibilizátoru, který prochází řadou intramolekulárních chemických reakcí, které vedou k oxidaci různých buněčných komponent) a biostimulace (hojení ran a úleva od bolesti díky stimulaci mikrocirkulace) [1, 4, 16].

Fototermický mechanismus nastává s vyšší hustotou výkonu (10<sup>1</sup>-10<sup>6</sup> W/cm<sup>2</sup>) a s klesající dobou interakce. Absorbovaná světelná energie se přemění na tepelnou energii. Na tomto principu jsou založeny hlavní chirurgické aplikace laserů. Tepelný efekt se využívá při operacích, jako je tkáňové odstranění, řezání a koagulace tkáně. Struktura a funkce živých tkání je do značné míry určena celou řadou bílkovin. Tyto makromolekuly jsou stabilní při tělesné teplotě. Pokud se teplota zvýší nad 50 °C, molekula bílkoviny ztrácí svoje prostorové uspořádání a tím i schopnost svých buněčných funkcí. Výsledkem může být až nevratný děj, tj. denaturace molekul bílkovin. Teploty do 45 °C způsobují jen nepodstatné změny organické tkáně, nejedná se ještě o nevratné tkáňové změny. Při teplotách 45-50°C se objevují enzymatické změny a edém. Ohřev na více než 60 °C po dobu více než několik sekund způsobuje již koagulaci tkáně, tj. denuraci bílkovin. V rozmezí teplot 40-100 °C se začíná měnit většina proteinů, RNA, DNA, membrány a jejich integrální struktury; výsledkem je denaturace nebo ztráta funkce. Při teplotách nad 80 °C se zvyšuje propustnost buněčných membrán, a nelze tak již udržet rovnováhu chemických koncentrací. Při teplotách 90-100 °C se buněčná protoplazma začíná odpařovat, následuje vysoušení a smršťování tkáně. Při teplotě 100-300 °C dochází k vaporizaci, při teplotách větších než 300 °C dochází ke karbonizaci, spálení (vypaření) [1, 3, 4, 16, 17]. Viz obr. 2.6. a tab. 2.2.



Obr. 2.6.: Princip laserové koagulace (vlevo) a laserové vaporizace (vpravo).

(Převzato: **Knappe V, Frank F, Rohde E. Principles of Lasers and Biophotonic Effects. Photomed Laser Surg 2005;22:411-417.**)

Tab. 2.2.: Tepelný efekt laserového záření

Teplota (°C)	Biologický efekt
37	Norma
<43	Biostimulace
43-45	Hypertermie
50	Redukce enzymové aktivity
>60	Proteinová denaturace (koagulace)
80	Permeabilita buněčných membrán
100	Vaporizace
>150	Karbonizace
>300	Ablace

(Převzato: *Jawad MM, Qader STA, Zaidan AA, Zaidan BB, Naji AW, Qader ITA. An Overview of Laser Principle, Laser-Tissue Interaction Mechanisms and Laser Safety Precautions for Medical Laser Users. Int J Pharmacol 2011; 7(2):149-160.*)

Fotoablativní mechanismus nastává při plošné hustotě výkonu  $10^7$ - $10^{10}$  W/cm<sup>2</sup>. Poprvé byl objeven v roce 1982 (Srinivasan a Myane). Vlivem ozáření vysoké intenzity fotony rozkládají molekuly porušením chemické vazby (dochází k přímému rozpadu molekulárních vazeb). Toho se využívá při incizi a ablaci tkání [1, 3, 4, 16].

Fotoplazmatický mechanismus - hustota výkonu nad  $10^{11}$  W/cm<sup>2</sup>. Dochází k uvolnění velkého množství elektronů, čímž vzniká plazma, která přímým kontaktem s tkání vytváří rázovou vlnu, jejíž absorpcí dochází k disrupci tkáně. Využití - např. močové konkrementy a prakticky zejména při litotripsi [1, 4].

## 2.9. Typy a použití laserů

### Rozdělení laserů

Lasery lze rozdělit dle skupenství aktivního média na pevnolátkové, kapalně, plynové a polovodičové [1]. Následující tabulka shrnuje rozdělení, základní vlastnosti a použití některých běžných typů laserů (viz tab. 2.3.). Dále lze lasery dělit podle výkonu (třída 2 do 1 mW, třída 3A do 5 mW a výkonové hustoty 25 mW/m<sup>2</sup>, třída 3B do 500 mW), podle vlnové délky (modrá cca 450-500 nm, zelená cca 500-550 nm, červená cca 600-700 nm, infračervená cca 700-950 nm), podle druhu provozu zářiče laseru (s kontinuálním provozem, s pulzním provozem), podle tvaru paprsku (paralelní, rozbíhavý bez ohniska, rozbíhavý s ohniskem), podle počtu paprsků (jednopaprskový, vícepaprskový), podle ovládání laseru (ruční, strojní, bodové) [15].

### Použití laserů

Laser se používá v akupunktuře, fyzioterapii, kosmetice, ortopedii, revmatologii, stomatologii, dermatologii, neurologii, rehabilitaci, traumatologii a všeobecném lékařství [2]. Vysokovýkonných laserů využívá jak všeobecná chirurgie, tak i další specializace, jako ORL,

urologie, gynekologie, neurochirurgie, dentoalveolární a maxilofaciální chirurgie i plastická chirurgie [12].

Na našem pracovišti (Centrum fotonické medicíny ve Všeobecné fakultní nemocnici v Praze) nejvíce využíváme diodový laser (obr. 2.7.), pulzní barvivový laser a erbiový laser (Er:YAG laser; obr. 2.7.). Diodové lasery se v medicíně uplatňují stále více. Laserové záření se nejlépe vstřebává v tkáních, kde je přítomno červené krevní barvivo (hemoglobin), proto je nejúčinnější při ošetření měkkých tkání, jako je dásně, sliznice nebo kůže. Pulzní barvivový laser používáme k terapii vaskulárních lézí (naevus flammeus, teleangiectázií, hemangiomů apod.). Erbiový laser má velice jemné účinky, nejvíce se absorbuje ve vodě, a proto je většina energie absorbována již v nejvrchnějších vrstvách epidermis. Erbiový laser není schopen zastavit kapilární krvácení. Využití nachází v terapii pigmentovaných i nepigmentovaných lézí kůže. Mimo jiné se erbiový laser využívá ve stomatologii (záchovná stomatologie, endodoncie, parodontologie).



Obr. 2.7.: Erbiový laser, diodový laser.

## 2.10. Laserová bezpečnost

Laserové světlo může být zaměřeno na malé místo s vysokou intenzitou ozáření [14]. Této vlastnosti se na jedné straně využívá, ale na druhé straně představuje určité riziko pro osoby, které pracují s lasery, nebo pro pacienty samotné. Je tedy bezpodmínečně nutné dodržovat určité zásady při práci s laserem a požadavky pro bezpečnost práce.

Rizika laserového záření musí být rozpoznána a vyhodnocena. Druhy laserového rizika:

- Oko: Akutní expozice oka lasery některých vlnových délek a síly mohou způsobit popálení rohovky nebo sítnice. Chronické expozice vyšších dávek mohou způsobit poranění rohovky nebo zakalení čočky (kataraktu).
- Kůže: Akutní vystavení vysoké úrovni záření může způsobit popálení, zatímco záření ultrafialové a blízké ultrafialovým vlnovým délkám může způsobit karcinogenezi.
- Chemická: některé lasery potřebují k fungování nebezpečné nebo toxické látky (tj. chemické barvivo).
- Nebezpečí úrazu elektrickým proudem: mnoho laserů produkuje vysoké napětí, které může být smrtelné.
- Nebezpečí požáru: rozpouštědla použitá v barvivových laserech jsou hořlavá. Vysoké napětí nebo bleskové lampy mohou způsobit vznícení. Přímé paprsky nebo odrazy od

vysokých výkonů kontinuálních vln infračervených laserů mohou zapálit hořlavé materiály.

- Další riziko zahrnuje potenciální vdechování vzduchu s biologicky nebezpečnými materiály, které se mohou uvolňovat v důsledku chirurgického použití laseru [3].

Laserové bezpečnostní standardy a klasifikace byly vypracovány jako normy v roce 1993 podle ANSI (American National Standard Institute). Tato klasifikace je založena na dávce nebo energii laseru na výstupu. V podstatě je klasifikace používána k popisu schopnosti laseru způsobit poranění osob. Čím vyšší je číslo, tím je laser nebezpečnější [1, 18].

- Třída 1: Nízko-výkonné lasery a laserové systémy, které nemohou emitovat hladinu laserového záření větší než maximální přípustná expozice (MPE). Lasery 400-550 nm, výstupní výkon není větší než 0,39 mW. Lasery a laserové systémy I. třídy nejsou schopny způsobit poškození očí, proto jsou považovány za bezpečné. Není žádný požadavek na zvláštní bezpečnostní opatření.
- Třída 2: Viditelné nízko-výkonné lasery a laserové systémy kontinuálního nebo pulzního režimu, které nejsou schopny způsobit poškození očí, pokud nepůsobí přímo po delší dobu (více jak 1000 s). Výkon na výstupu je 1 mW nebo méně. Zvláštní bezpečnostní opatření je ochrana očí.
- Třída 3: Střední lasery nebo laserové systémy schopné způsobit poškození očí s krátkodobou ( $<0,25$  s) expozicí přímého nebo odraženého světla. Zahrnuje třídy 3a a 3b.
- Třída 3a: Lasery a laserové systémy, které by za normálních okolností neměly vyvolat nebezpečí při pohledu nekrytým okem po krátkou dobu. Mohou představovat nebezpečí poškození zraku při pohledu do paprsku. Mají omezený výstupní výkon na 1-5 mW o vlnové délce 400-700 nm. Musí být přiměřená ochrana očí.
- Třída 3b: Lasery mají omezený výstupní výkon na 5-500 mW při kontinuálním režimu a mají hustotu energie menší než  $10 \text{ J/cm}^2$  ve viditelném nebo neviditelném laserovém světle. Paprsek dopadající přímo na oko je vždy nebezpečný. Riziko zahrnuje sledování přímého i odraženého paprsku.
- Třída 4: Lasery mají vysoké výstupní energie, vyšší než 500 mW v kontinuálním režimu a více než  $10 \text{ J/cm}^2$  pro pulzní režim. Tyto laserové systémy jsou schopné způsobit vážné poškození očí již po krátké době ( $<0,25$  s). Lasery a laserové systémy tříd 4 jsou schopné také způsobit vážné poškození kůže a vznícení hořlavých a výbušných materiálů.

V rámci laserového působení je lidské oko nejzranitelnější tkání. Proto je nesmírně důležité dbát na důslednou ochranu očí, tj. oči každého na operačním sále by měly být chráněny ochrannými brýlemi, které by měly odpovídat konkrétní energii a příslušné vlnové délce laserů [3].

Tab. 2.3. Rozdělení a použití laserů

Typ laseru	Aktivní prostředí	Vlnová délka	Spektrální oblast	Příklady použití
<b>Pevnolátkové</b>				
Rubínový laser	Rubín	694,3 nm	Červená	Holografie, odstraňování tetování
Nd:YAG laser	Neodym, YAG	1064 nm	IR	Litografie, chirurgie, strojírenství, spektroskopie
Ho:YAG laser	Ho, YAG	2,1 $\mu\text{m}$	IR	Chirurgie, stomatologie
Er:YAG laser	Erbium	2,94 $\mu\text{m}$	IR	Chirurgie, stomatologie
Titan-safírový laser	Titan, safír	690-1000 nm	Červená, IR	Spektroskopie, fs pulsy
Alexandritový laser	Alexandrit	700-800 nm	Červená, IR	Žíhání, řezání
<b>Barvivové</b>				
Rhodamin 6G	Rhodamin 6G	570-650 nm	Žlutá, oranžová, červená	Dermatologie
Kumarin C30 laser	Kumarin C30	504 nm	zelená	Oftalmologie, chirurgie
<b>Plynové - atomární</b>				
He-Ne laser	Helium, neon	543 nm, 633 nm	Zelená, červená	Zaměřování polohy, spektroskopie
Měděný laser	Měď	510 nm, 612 nm, 1315 nm	Viditelné spektrum	Podmořská komunikace a lokace
Jodový laser	Jód	342 nm, 612 nm, 1315 nm	Viditelné, IR	Věda, termojaderná fúze
Xenonový laser	Xenon, neon, helium	140 vlnových délek	Viditelné, IR	
<b>Plynové - iontové</b>				
Argonový laser	Argon	488 nm, 514 nm	Modrá, zelená	Oftalmologie, spektroskopie
Hélium-kadmiový laser	Helium, kadmium	325 nm, 442 nm	UV, modrá	Spektroskopie
<b>Plynové - molekulární</b>				
Vodíkový laser	Vodík	100-120 nm, 140-165 nm	UV	
CO <sub>2</sub> laser	Oxid uhličitý	10,6 $\mu\text{m}$	IR	Sváření, řezání, stomatologie, gravírování
CO laser	Oxid uhelnatý	5-6,5 $\mu\text{m}$	IR	
Excimerové lasery	ArF, KrCl, KrF, XeCl, XeF	193-351 nm	UV	Oftalmologie, laserová ablace, fotolitografie
Dusíkový laser	dusík	337 nm	UV	
<b>Polovodičové</b>				
GaAs laser	GaAs	650 nm, 840 nm	Červená, IR	Laserová ukazovátka, laserová tiskárna
GaAlAs laser	GaAlAs	670-830 nm	Červená	Telekomunikace, přehrávače CD, displeje
AlGaInP laser	AlGaInP	650 nm	Červená	Přehrávače DVD
GaN laser	GaN	405 nm	Modrá	Blu-ray disky
InGaAlP laser	InGaAlP	630-685 nm	Červená	Lékařství

UV - ultrafialová, IR - infračervená.

(Převzato z <http://cs.wikipedia.org/wiki/Laser>)

## 3. Prekancerózy

### 3.1. Prekancerózy a jejich rozdělení

Z terapeutického hlediska je pro onkologického pacienta nesmírně důležitá včasná diagnostika nádorového onemocnění. Z hlediska preventivního se klade za cíl diagnostikovat již stavy, které mohou předcházet nádorovému onemocnění.

Z klinického pohledu se jako prekanceróza označují patologické stavy, které mohou za určitých okolností vést ke vzniku zhoubného nádoru. Pro klinickou potřebu se prekancerózy dělí podle závažnosti a stádia vývoje do tří skupin, na prekancerózy fakultativní, obligatorní a intraepiteliální karcinomy. Fakultativní prekancerózy mají menší pravděpodobnost malignizace, do této skupiny se řadí stacionární leukoplakie, chronické kožní a slizniční píštěle, erozivní a hyperkeratotické formy lupus erythematosus a lichen ruber planus, profesionální dermatitidy a dermatózy, tuberkulóza kůže, poaktinické cheilitidy a stomatitidy, syndromy Sjögrenův a Plummer-Vinsonův. Obligatorní prekancerózy mají již vysokou pravděpodobnost malignizace. Do této skupiny se řadí erozivní a verukózní leukoplakie, senilní teratom, cornu cutaneum, keratoakantom, xeroderma pigmentosum, syndrom nevoidních bazaliomů (syndrom Gorlinův-Goltzův). Mezi intraepiteliální karcinomy se řadí Bowenova dermatóza a erytroplakie. V současné klasifikaci zhoubných nádorů se intraepiteliální karcinomy řadí již ke zhoubným nádorům [19].

Mezi nejčastější prekancerózní stavy dutiny ústní, s kterými se setkáváme na našem laserovém pracovišti (Centrum fotonické medicíny VFN v Praze), bezesporu patří leukoplakie, v daleko menším množství erytroplakie a v téměř zanedbatelném počtu lichen ruber planus. Je tedy pochopitelné, že právě leukoplakie se staly cílem našeho výzkumného záměru.

### 3.2. Leukoplakie („ČÁST A“)

#### 3.2.1. Definice a maligní potenciál

Leukoplakie je definována, podle Světové zdravotnické organizace (WHO), jako bílá plocha nebo povlak, který nelze setřít, a není klinicky ani patologicky definována jako jiné známé onemocnění [20]. Definice byla dále rozšířena o možnost některých leukoplakií transformovat se v karcinom.

Jedná se tedy o lézi v dutině ústní, která má vysoký premaligní potenciál. Maligní transformace není stejná u všech leukoplakií, ale záleží na formě, charakteristice, tj. přítomnosti epiteliálních dysplazií, na lokalizaci léze [21]. Leukoplakie se svým maligním potenciálem je řazena k premaligním, prekancerózním nebo potenciálně maligním lézím. Některé lokalizace leukoplakií ukazuje obr. 3.1.

Prekancerózní léze jsou definovány jako morfologicky změněné tkáně, u kterých je pravděpodobnější vznik karcinomu než u kontrolní skupiny (zdravé populace) [22]. Faktory, které přispívají k maligní transformaci z prekancerózy, jsou vlivy vnějšího prostředí zahrnující

kouření, abúzus alkoholu, expozice UV-záření, virové infekce a špatné dietetické návyky [23].



Obr. 3.1.: Lokalizace orálních leukoplakií: obr. (a) leukoplakie v oblasti hrany jazyka vpravo; obr. (b) leukoplakie na alveolární sliznici dolní čelisti vlevo; obr. (c) a (d) leukoplakie v oblasti spodiny dutiny ústní.

Znaky spojené s vyšším rizikem maligní transformace jsou pohlaví (je větší u žen), čas (delší přítomnost leukoplakického ložiska), idiopatická leukoplakie (leukoplakie u nekuřáků), lokalizace (výskyt leukoplakie na spodině dutiny ústní, jazyku), nehomogenní typ leukoplakií, přítomnost *Candida albicans* (zejména lokalizací na hřbetu jazyka), přítomnost dysplastických změn [24]. Z toho všeho je největší význam přisuzován přítomnosti dysplastických změn, ale i u lézí bez dysplastických změn je riziko maligní transformace, zde je ovšem zapotřebí delší časový interval. Znaky homogenních a nehomogenních leukoplakií ukazuje tab. 3.1.

Tab. 3.1.: Znaky homogenních a nehomogenních leukoplakií.

Homogenní leukoplakie	Nehomogenní leukoplakie
Homogenní bílá barva, ohraničení ostré	Bílé či bílo-červené plochy
Uniformní vzhled	Nodulární, verukózní nebo exofytický charakter
Hladký povrch, tenká vrstva	Nepravidelný povrch
Většinou bez dysplastických změn	Přítomny dysplastické změny
Maligní transformace vzácná	Větší maligní potenciál

S dysplastickými změnami středního a těžkého stupně je riziko malignizace 2,3x vyšší (oproti leukoplakiím bez dysplastických změn nebo kde jsou přítomny dysplastické změny mírného stupně) [25]. Poměr maligní transformace se pohybuje v rozmezí od 0-20 % v rozmezí 1-30 let v závislosti na typu léze leukoplakie [26]. U nehomogenního typu leukoplakií je 7x vyšší riziko malignizace než u homogenního typu. U lézí větších jak 200 mm<sup>2</sup> je riziko 5,4x větší [27]. Riziko transformace leukoplakie v karcinom je zřetelně vyšší u starší populace. Ve věku mezi 70-89 lety je incidence karcinomu 7,5 % za 5 let. U mladší populace, tedy ve věku pod 50 let, se objevil karcinom asi u 1 % [28]. Je velmi zajímavé sledovat vzrůstající riziko malignizace s ohledem na časové hledisko. Po uplynutí 10 let může malignizovat až 6 % leukoplakií [23], po 20 letech již riziko může vzrůst až na 42,2 % [29].

### **3.2.2. Incidence, etiologické faktory**

Incidence leukoplakií je udávána v rozmezí 1,1-2,4 na 1000 obyvatel za rok u mužů a 0,2-1,3 u žen. Prevalence se pohybuje mezi 0,2-4,9 %. Leukoplakie se zpravidla vyskytují po 30. roce života s největším zastoupením ve věku nad 50 let [24]. Ale není výjimkou výskyt leukoplakií i u mladších jedinců.

Etiologické faktory vzniku leukoplakií jsou dobře známy. Rozhodující vliv má kouření a alkohol [21, 24]. V Severní Americe a Evropě převládá kouření tabáku, v Asii hraje úlohu zejména žvýkání tabáku. U nejdůležitějšího etiologického faktoru, tedy u kouření, má rozhodující vliv počet vykouřených cigaret za den (alespoň 5 cigaret za den) a časové hledisko, tedy jak dlouho (kolik let) pacient kouří. U alkoholu, jako u potencujícího etiologického faktoru, je opět důležité časové hledisko působení noxy, větší vliv je přikládán silným destilátům než pivu. Candida albicans a její úloha je stále zmiňována, ale je spíše brána jako potencující faktor než etiologický. Úloha vitamínů A, vit. B12, vit. C, beta-karotenu, kys. listové jsou ve stádiu zájmu některých studií a přesný vliv je stále diskutován. Dietní zdroje vit. C, E, A a karotenoidů signifikantně snižují riziko vzniku orální premaligní léze. Vysoké dávky vit. C jsou spojovány s redukcí rizika vzniku premaligní léze. Vysoké dávky vit. E a vit. A jsou spojovány se vzrůstajícím rizikem vzniku premaligní léze. Kouření, vyšší dávka vit. A a E toto riziko ještě zvyšují [30].

### **3.2.3. Prevence**

Vzhledem k malignímu potenciálu je u leukoplakií důležitá primární prevence, tedy včasná diagnostika nové leukoplakické léze na sliznici dutiny ústní. Prvním místem by mělo být každoroční preventivní vyšetření u stomatologa (nelze ale opomíjet onkologickou orientační prohlídku úst u praktického lékaře či třeba otorhinolaryngologa), tj. kromě cílené prohlídky zubů je třeba se vždy věnovat možným projevům onemocnění sliznic. Při diagnostice může pomoci řada pomocných vyšetřovacích metod založených na různých principech (elektrický odpor, ultrazvuk, chemická reakce povrchu), na našem pracovišti se pro jednoduchost ve screeningu osvědčila autofluorescence s přímou vizualizací. Systém využívá rozdílné autofluorescence tkání, kdy fluorofory po excitaci světlem vhodné vlnové délky (modré světlo) emitují světlo delší vlnové délky (zelené světlo), čímž jsou odhalovány mnohé změny buněčné, strukturální či metabolické aktivity [31]. Metoda však není dostatečně přesná a specifická, pro finální diagnostiku je však použitelná pro zjednodušení screeningu.



Pokud je přítomno patologické ložisko na sliznici dutiny ústní, které se nehojí během 2-4týdenní observace, je nezbytně nutné provést histologickou verifikaci dané léze. Leukoplakie jsou podmíněny keratózou, hyperkeratózou, para- nebo hyperparakeratózou, hyperorthokeratózou [32, 33]. Histopatologické aspekty leukoplakií se mohou lišit od atrofické formy po hyperplastickou. Epiteliální dysplazie mohou být mírného, středního nebo těžkého stupně [24]. Pod pojmem dysplazie rozumíme jakoukoliv poruchu diferenciacie epitelu, kde jsou přítomny minimálně dva nebo více následujících znaků - nepravidelné vrstvení epitelu, hyperplazie zásobní vrstvy, slizniční čepy tvaru kapek, zmnožení mitóz (s malým počtem abnormálních mitóz), změny polarity bazálních buněk, změny jádro-plazmového poměru, polymorfie jader, hyperchromie jader, přítomnost větších nukleonů, monocelulární keratinizace [33]. Tab. 3.2. ukazuje znaky, které jsou určující ke stanovení dysplazie.

Tab. 3.2.: O dysplazii mluvíme tehdy, když jsou přítomné dva nebo více těchto znaků.

Nepravidelné vrstvení epitelu	Změny jádro-plazmového poměru
Hyperplazie zásobní vrstvy	Polymorfie jader
Slizniční čepy tvaru kapek	Hyperchromie jader, nukleuly
Zmnožení mitóz (s malým počtem abnormálních mitóz)	Přítomnost větších nukleolů
Změny polarity bazálních buněk	Monocelulární keratinizace

(Převzato: *Liška, K. (1983) Leukoplakie . Orofaciální patologie, Avicenum, str. 96-101.*)

### 3.2.4. Terapie

Ačkoliv většina leukoplakií se chová asymptomaticky, primární terapie má za cíl prevenci možné maligní transformace. Při terapii leukoplakií je důležité modifikovat a eliminovat příčinné faktory, chemoprevence (vit. C, vit. A, vit. E) s retinoidy a karotenoidy, chirurgická excize, laserová terapie, kryoterapie, fotodynamická terapie, aplikace bleomycinu nebo 5-fluorouracilu [34].

U chirurgických metod terapie leukoplakií se recidivy pohybují v rozmezí od 20-35 % [24, 34, 35]. Chirurgickou intervencí lze v zásadě využít u všech typů leukoplakií. Největší výhodou je možnost odeslat zcela neporušený vzorek na biopsii k histologické verifikaci. U rozsáhlých lézí však vzniká obtížně hojitelný defekt s častým jizvením, s estetickými a funkčními komplikacemi. V tomto případě můžeme s výhodou využít laserovou terapii. Laserová intervence tak umožňuje nejen prevenci recidiv a možné maligní transformace, ale snižuje i pooperační dysfunkce [36]. Recidivy po laserové terapii se udávají v rozmezí od 7,7-38,1 % a maligní transformace v rozmezí 2,6-9 % [37]. Dosud nejvíce používané lasery při terapii leukoplakií jsou CO<sub>2</sub> laser, Nd:YAG laser a KTP laser (vysoko výkonný laser na bázi krystalu kalium titanylfosfátu) [24, 26, 37, 38, 39].

Výhody laserové terapie jsou mnohé: hemostatický efekt (zlepší přehlednost operačního pole), krátký čas léčebné intervence, minimální zničení okolních tkání (snížení akutní zánětlivé reakce a pooperační bolesti). Hojení rány je po laserové intervenci excelentní, s minimem dysfunkcí dutiny ústní, bez kontrakce dané oblasti. Výkon je spojen s minimálním otokem. Nevýhodou laserové intervence je částečné termické zničení odebrané léze, které

limituje histopatologické vyšetření, opožděná regenerace epitelu přímo v ráně s porovnáním s chirurgickou excizí se suturou. Používání laserů vyžaduje dodržování speciálních pravidel pro bezpečnost práce v průběhu terapie (například nutnost pracovat s ochrannými brýlemi apod.) [26, 37, 38].

### 3.2.5. Klasifikace a staging

Za účelem podpory jednotného hlášení o různých aspektech leukoplakií bylo zapotřebí vytvořit jednotnou klasifikaci a staging, který by zohledňoval lokalizaci, klinické subtypy a histopatologické chování leukoplakií. Návrh klasifikace a staging je podrobně zobrazen v tab. 3.3.-3.7. [40].

Tab. 3.3. Orální leukoplakie: diagnostika podle velikost (L)

L1	< 2 cm
L2	2 < x < 4 cm
L3	> 4 cm
L4	Neurčeno

Tab. 3.4. Orální leukoplakie diagnostika podle lokalizace

S1	Všechny oblasti úst mimo S2
S2	Spodina dutiny ústní a jazyk
SX	Neurčeno

Tab. 3.5. Orální leukoplakie: diagnostika podle vzhledu (C)

C1	Homogenní
C2	Nehomogenní
X	Neurčeno

Tab. 3.6. Orální leukoplakie: diagnostika podle histopatologického nálezu (P)

P1	Bez dysplastických změn
P2	Mírná dysplazie
P2	Středně těžká dysplazie
P2	Těžká dysplazie
X	Neurčeno

Tab. 3.7. Orální leukoplakie: staging

Stupeň 1	L1 - LX, S1, C1, P1/P2
Stupeň 2	L1 - LX, S1, C2, P1/P2
	L1 - L4, S2, C1, P1/P2
Stupeň 3	L1 - LX, S2, C2, P1/P2
Stupeň 4	L1 - LX, S1 - SX, C1 - CX, P3/P4

(Tab. 3.3.-3.7. převzaty: *Schepman KP, van der Waal I. A proposal for a classification and staging system for oral leukoplakia: a preliminary study. Oral Oncol, Eur J Cancer 1995;31B:396-398.*)

### **3.3. Leukoplakie - hypotézy a cíle práce**

#### **3.3.1. Hypotézy**

- Léčebná intervence diodovým laserem o vlnové délce 980 nm (Cerelas D 25, CeramOptec, Bonn, Německo) může být efektivní při terapii orálních leukoplakií.
- Předpokládáme, že leukoplakie lokalizované na jazyku a spodině dutiny ústní představují rizikovější oblast jak co do výskytu recidiv, tak do možnosti maligní transformace.
- Dále předpokládáme, že laserová intervence bude subjektivně hůře vnímána pacienty v lokalizacích leukoplakií na jazyku (event. na spodině dutiny ústní).

#### **3.3.2. Cíle práce**

Tato „ČÁST A“ disertační práce je zaměřena na zhodnocení léčebného efektu diodového laseru v terapii orálních leukoplakií, tj. zjištění výskytu recidiv, maligní transformace a zhodnocení subjektivního vnímání terapie samotnými pacienty.

Dílčí cíle práce, které byly stanoveny:

- Naplánovat studii s tématem účinnosti diodového laseru při odstranění orálních leukoplakií.
- V průběhu jednoho roku shromáždit soubor pacientů s výskytem leukoplakií v dutině ústní, kteří by poskytli souhlas se vstupem do studie a zároveň by po laserové intervenci podstoupili plánované kontroly v přesně stanovených termínech.
- Provést vlastní laserovou intervenci u tohoto souboru pacientů.
- Dispenzarizovat pacienty v pooperačním období.
- Zhodnotit úspěšnost či neúspěšnost léčby v trvání 24 měsíců od léčebné intervence dle stanovených parametrů (tj. v závislosti na lokalizaci leukoplakie).
- Zhodnotit výskyt maligní transformace s ohledem na lokalizaci leukoplakie.
- Zhodnotit subjektivní vnímání laserové intervence samotnými pacienty.
- Sumarizovat výsledky, závěry.

### 3.4. Materiál a metodika - leukoplakie

Prospektivní monocentrická studie proběhla v Centru fotonické medicíny Všeobecné fakultní nemocnice v Praze (Česká republika) v letech 2005-2009. Sledováno bylo celkem 76 pacientů, z nichž bylo 36 mužů a 40 žen. Jednalo se o po sobě jdoucí nemocné bez vyřazení kteréhokoli z nich. Věkový průměr byl u mužů 52,66 a u žen 55,85. Celkem 70 pacientů bylo léčeno pomocí diodového laseru o vlnové délce 980 nm (Cerelas D 25, CeramOptec, Bonn, Germany), 4 pacienti podstoupili klasickou chirurgickou excizi a u 2 pacientů jsme přistoupili, vzhledem k rozsahu a typu léze, pouze k pravidelné dispenzarizaci včetně kontroly autofluorescence (za využití přístroje VELscope, LED Dental, Burnaby, Kanada; viz. obr. 3.2.).



Obr. 3.2. Přístroje VELscope

Celkový počet pacientů, kteří podstoupili terapii diodovým lasem a tím byli začleněni do naší studie, byl 70 (34 mužů a 36 žen). Věkový průměr byl 59 let; u mužů 55,76 (rozmezí 26-89), u žen 62,06 (rozmezí 42-78) let. Celkový počet sledovaných afekcí byl 76, u 56 pacientů se jednalo o 1 ložisko leukoplakie, u 10 pacientů se jednalo o 2 afekce. Mnohočetný výskyt byl zaznamenán u 4 pacientů, tímto byly ze studie vyjmuti (celkový soubor pacientů začleněných do studie tak čítal 66 pacientů), neboť lze důvodně očekávat, že mnohočetné léze budou reagovat jinak a jejich počet byl pro statistickou validaci nedostatečný. U všech lézí všech pacientů byla známa histologická verifikace.

Tab. 3.8.: Zastoupení leukoplakií dle lokalizace.

Lokalizace	Počet	M:Ž	%
Jazyk	14	6:8	18,4 %
Ústní spodina	12	12:0	15,8 %
Vestibulum oris	4	2:2	5,3 %
Retromolární krajina	8	6:2	10,5 %
Tvář	12	0:12	15,8 %
Horní nebo dolní ret	8	6:2	10,5 %
Patro	8	6:2	10,5 %
Alveolární výběžek	10	6:4	13,2 %
X - multilokulární	-----	2:2	-----

Zastoupení leukoplakií dle lokalizace vyjadřuje tabulka 3.8. Nejvíce leukoplakií bylo lokalizováno na jazyku (14 lézí), dále následovala ústní spodina a tvář (12 lézí), alveolární výběžek (10 lézí), retromolární krajina, horní nebo dolní ret a patro (8 lézí), vestibulum oris (4 léze). Procentuální zastoupení či rozložení poměru M:Ž ukazuje taktéž tabulka 3.8.

Ze 76 lézí bylo 44 homogenních leukoplakií (58 %) a 32 nehomogenních leukoplakií (42 %). Zastoupení homogenních a nehomogenních leukoplakií dle lokalizace ukazuje tabulka 3.9.

Tab. 3.9.: Zastoupení homogenních a nehomogenních leukoplakií.

Lokalizace	Homogenní leukoplakie	Nehomogenní leukoplakie
Jazyk	6	8
Ústní spodina	4	8
Vestibulum oris	4	0
Retromolární krajina	6	2
Tvář	6	6
Horní nebo dolní ret	6	2
Patro	4	4
Alveolární výběžek	8	2

Soubor pacientů byl rozdělen podle lokalizace na dvě skupiny, skupinu A a skupinu B. Skupina A zahrnovala leukoplakie, které byly lokalizovány na jazyku a spodině dutiny ústní. Skupina B zahrnovala leukoplakie, které byly lokalizovány mimo skupinu A, tedy vestibulum oris, retromolární krajinu, tvář, horní nebo dolní ret, patro, alveolární výběžek. Toto rozdělení mělo porovnat klinické aspekty leukoplakií lokalizovaných na jazyku a spodině dutiny ústní - tj. skupinu A (tedy rizikovější oblast s ohledem na chování leukoplakií), oproti ostatním lokalizacím zahrnutých ve skupině B. Tabulka 3.10. ukazuje zastoupení počtu lézí, procentuální zastoupení, rozložení s ohledem na pohlaví (M:Ž), jednotlivé zastoupení homogenních a nehomogenních leukoplakií ve skupině A a B.

Tab. 3.10.: Zastoupení leukoplakií ve skupině A a ve skupině B.

	Počet	%	M:Ž	Homogenní leukoplakie	Nehomogenní leukoplakie
<b>Skupina A</b>	26	34,2 %	18:8	10	16
<b>Skupina B</b>	50	65,8 %	26:24	34	16

Terapeutický protokol byl pro obě skupiny totožný. Všichni pacienti byli ošetřeni v lokální anestézii v rámci ambulantního ošetření. Léčebný postup začínal aplikací lokálního anestetika, tj. 4% Supracainu (Zentiva, Praha, Česká republika) nebo 3% Mepivastesinu (3M ESPE, Seefeld, Germany). Jako aplikační instrumentarium jsme používali injekční stříkačku s jemnou jehlou 29 G (aplikační jehla na inzulin), abychom pacientům zajistili co nejlepší komfort, minimální bolestivost při co nejmenším krvácení (obr. 3.3.a-c). Vlastní terapii jsme prováděli s výše uvedeným diodovým laserem (obr. 3.3.d) s výkonem, který se pohyboval v rozmezí 4-8 W, dle lokalizace. Vyšší výkon jsme mohli užít při laserové vaporizaci na jazyku nebo na tváři, naopak menší výkon jsme aplikovali při terapii např. na měkkém patře

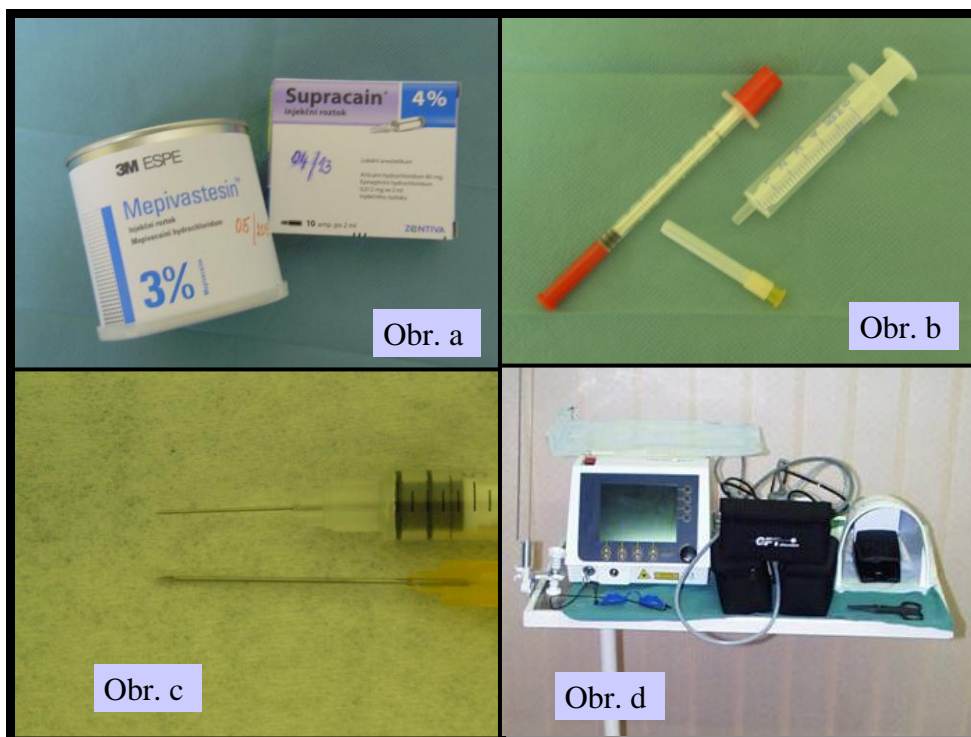
nebo na alveolárním výběžku, kde je sliznice velmi tenká a snadno mohlo dojít k obnažení patrové, resp. alveolární kosti (viz kazuistika níže). Laterální okraje zvolené terapie se pohybovaly mezi 3-5 mm od zřetelného okraje léze, hloubka laserové vaporizace byla čistě orientační. Výhodou laserové vaporizace bylo minimální, resp. žádné krvácení, čímž bylo operační pole velmi dobře přehledné. Následné ošetření rány po laserové vaporizaci nebylo nutné. Ihned po výkonu nebylo nutné u žádného pacienta podat analgetikum. U 2 medicínsky kompromitovaných pacientů jsme profylakticky nasadili antibiotickou clonu penicilinové řady. Jednalo se o pacienty, kteří prodělali operaci srdce a byli na antikoagulační terapii. Výhodou bylo, že nemusela být zajištěna hematologická příprava pacienta před samotným výkonem.

Po ošetření pacientů diodovým laserem nebylo nutné dodržovat speciální léčebný režim. Zdůrazňovali jsme jen vyčkat na odeznění anestetika před podáním stravy či tekutin, aby se pacienti netraumatizovali při mastikaci. Pacientům bylo dále doporučeno podávat analgetika dle vlastní potřeby, v případě většího otoku ledovat.

Všechny léze byly histopatologicky verifikovány před započatím terapie. Kontroly jsme prováděli po 1 měsíci po laserové vaporizaci, dále po 3, 6, 9, 12 měsících a 2 letech po terapii. V průběhu studie jsme pečlivě sledovali výskyt recidiv a možné maligní transformace jednotlivých leukoplakií.

Hodnocení recidiv jsme prováděli ve dvou odlišných rovinách sledování. První mělo za cíl stanovit pouze striktně počet recidiv po primární terapii leukoplakické léze a tím i úspěšnost vlastní primární terapie. V druhém sledování jsme při výskytu recidivy ihned přistoupili k zopakování terapie diodovým laserem. Termíny kontrol jsme ponechali v termínech, které byly určeny po primárních terapiích leukoplakií. V tomto směru jsme pak sledovali celkový výskyt všech recidiv k danému termínu kontroly, tedy nejen výskyt primární recidivy, ale všech recidiv (tj. i recidivu recidiv). Toto sledování nám posloužilo ke stanovení několika důležitých závěrů. V první řadě nám ukázalo výskyt všech recidiv, dále úspěšnost jejich následné terapie diodovým laserem a v neposlední řadě, jaký vliv mají opakující se recidivy na možný maligní zvrát leukoplakií. Biopsie jsme prováděli u pacientů při kontrolách pouze v případě recidiv nebo při nestandardním průběhu hojení.

Velký důraz jsme kladli i na subjektivní hodnocení léčby a následného hojení samotným pacientem. K tomuto účelu nám posloužila stupnice snášenlivosti od 1 do 5, kde 1 znamenala nejlepší a 5 nejhorší snášenlivost po laserové vaporizaci diodovým laserem. Pacienti hodnotili vlastní léčebný zákrok diodovým laserem a dále hodnotili průběh hojení ran po terapii. To jsme sledovali ve dvou časových intervalech, první zahrnovalo období do 1 týdne od terapie, druhé zahrnovalo období od 1 týdne do uplynutí 1 měsíce od terapie. Toto rozdělení bylo učiněno záměrně, protože jsme předpokládali, že obtíže při hojení budou nejvýraznější v průběhu prvního týdne po laserové intervenci.



Obr. 3.3.: Metodika terapie orálních leukoplakií. Obr. (a) zobrazuje anestetika, která jsme používali k znecitlivění léčené oblasti při laserové intervenci; obr. (b) a (c) ukazuje vlastní injekční aplikační instrumentarium. Obr. (d) diodový laser, kterým byla laserová terapie orálních leukoplakií prováděna.

### 3.5. Výsledky - leukoplakie

Studie zahrnovala celkem 66 pacientů, kteří byli zahrnuti do studie podle výše uvedených kritérií, léčeno bylo celkem 76 lézí leukoplakií. Léčebnou metodou byla laserová vaporizace diodovým laserem (4-8 W). Všechny léze leukoplakií byly histologicky verifikovány. V rámci studie jsme sledovali jak objektivní (tj. výskyt recidiv a maligní transformace), tak subjektivní (tj. vnímání terapie samotnými pacienty) hodnocení terapie.

#### 3.5.1. Objektivní hodnocení

Z celkového počtu 76 lézí odpovídalo 44 homogenním leukoplakiím, 36 nehomogenním leukoplakiím. Skupina A čítala 26 lézí (34,2 % z celkového počtu lézí), skupina B čítala 50 lézí (65,8 % z celkového počtu lézí).

##### 3.5.1.1. Sledování recidiv po primární terapii

Kontrola 1 měsíc od terapie diodovým laserem prokázala recidivu celkem u 4 pacientů (6,1 % z celkového souboru pacientů; 5,3 % z celkového počtu lézí). Ve skupině A se recidiva objevila u 1 pacienta (1,5 % z celkového souboru pacientů; 1,3 % z celkového počtu lézí), lokalizována byla na spodině dutiny ústní. Ve skupině B se objevila recidiva u 3 pacientů (4,6

% z celkového souboru pacientů; 3,9 % z celkového počtu lézí) s lokalizací po jednom ložisku na alveolárním výběžku, patře a retromolární krajině. Rozdíl výskytu recidiv ve skupině A a B byl statisticky nesignifikantní pro t-test [ $t(74) = -0,394$ ;  $p = 0,695$ ] i pro M-W test [ $z = -0,396$ ;  $p = 0,692$ ].

Kontrola po 3 měsících prokázala recidivu po primární terapii u 1 pacienta zaznamenaného ve skupině B (1,5 % z celkového souboru pacientů; 1,3 % z celkového počtu lézí). Jednalo se o recidivu na tváři. Ve skupině A jsme po 3 měsících neprokázali žádnou recidivu. Rozdíl výskytu recidiv ve skupině A a B byl statisticky nesignifikantní pro t-test [ $t(74) = -0,719$ ;  $p = 0,475$ ] i pro M-W test [ $z = -0,721$ ;  $p = 0,471$ ].

Kontrola po 6 měsících prokázala recidivu celkem u 3 pacientů (4,6 % z celkového souboru pacientů; 3,9 % z celkového počtu lézí). Ve skupině A se recidiva objevila u 3 pacientů (4,6 % z celkového souboru pacientů; 3,9 % z celkového počtu lézí). Recidivy byly lokalizovány 2x na jazyku a 1x na ústní spodině. Ve skupině B se při kontrole po 6 měsících od primární terapie diodovým laserem neobjevila žádná recidiva. Rozdíl výskytu recidiv ve skupině A a B byl statisticky signifikantní pro t-test [ $t(74) = 2,520$ ;  $p = 0,014$ ] i pro M-W test [ $z = -2,435$ ;  $p = 0,015$ ].

Při kontrole po 9 měsících od primární terapie se neobjevila žádná nová recidiva. Tentýž výsledek, tj. bez výskytu nové recidivy, jsme zaznamenali i při kontrole po uplynutí 12 měsíců od primární terapie.

Po uplynutí 24 měsíců od primární terapie jsme zaznamenali jednu recidivu ve skupině A (1,5 % z celkového souboru pacientů; 1,3 % z celkového počtu lézí), která byla lokalizována na jazyku. Rozdíl výskytu recidiv ve skupině A a B byl statisticky nesignifikantní pro t-test [ $t(74) = 1,395$ ;  $p = 0,167$ ] i pro M-W test [ $z = -1,387$ ;  $p = 0,165$ ]. Výskyt recidiv k počtu lézí ukazuje tab. 3.11., efektivitu léčby po primární terapii zobrazuje graf 3.1.

Rozdíly efektivit léčby (uvedených v %) skupiny A a skupiny B po primární terapii jsou ve všech sledovaných časových intervalech kontrol statisticky nesignifikantní [kontrola 1 měsíc po terapii  $\chi^2(1) = 0,159$ ;  $p = 0,690$ ; kontrola 3 měsíce po terapii  $\chi^2(1) = 0,480$ ;  $p = 0,488$ ; kontrola 6 měsíců po terapii  $\chi^2(1) = 0,990$ ;  $p = 0,320$ ; kontrola 24 měsíců po terapii  $\chi^2(1) = 2,067$ ;  $p = 0,151$ ].

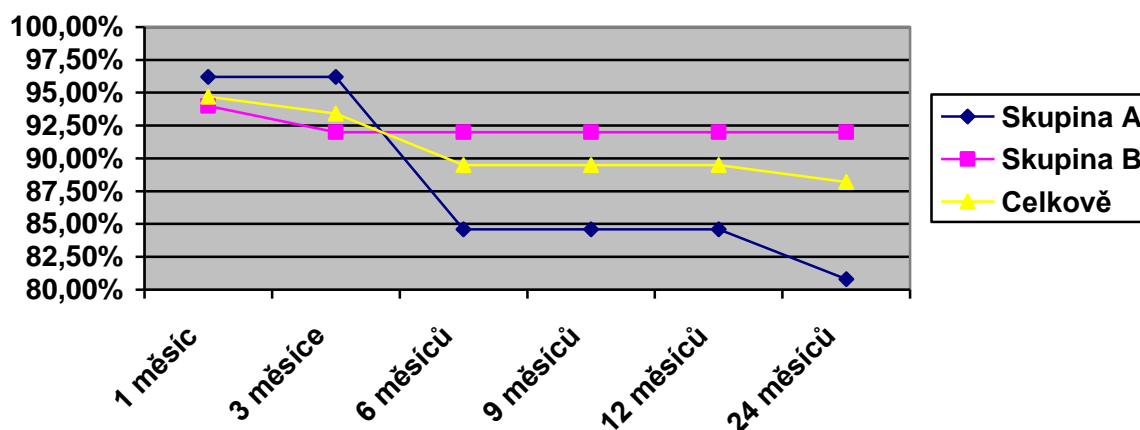
Tab. 3.11. Recidivy po primární terapii

Primární terapie (kontrola)	Recidivy z celkového souboru lézí (76)			Skupina A (26)			Skupina B (50)		
	Počet	%	EL	Počet	%	EL	Počet	%	EL
1 měsíc	4	5,3	94,7	1	3,8	96,2	3	6,0	94,0
3 měsíce	1	1,4	93,4	-----	---	96,2	1	2,0	92,0
6 měsíců	3	3,9	89,5	3	11,5	84,6	-----	---	92,0
9 měsíců	-----	---	89,5	-----	---	84,6	-----	---	92,0
12 měsíců	-----	---	89,5	-----	---	84,6	-----	---	92,0
24 měsíců	1	1,4	88,2	1	3,8	80,8	-----	---	92,0

(EL - efektivita léčby po primární terapii)



Graf. 3.1. Časová efektivita léčby po primární terapii



Z tohoto pozorování jsme získali zajímavý poznatek, že již primární terapie leukoplakií dutiny ústní diodovým laserem byla úspěšná u 57 pacientů (86,4 % z celkového souboru pacientů) u 67 lézí (88,2 % z celkového počtu lézí).

### 3.5.1.2. Sledování všech recidiv

Kontrola 1 měsíc od terapie diodovým laserem prokázala recidivu celkem u 4 pacientů (6,1 % z celkového souboru pacientů; 5,3 % z celkového počtu lézí). Ve skupině A se recidiva objevila u 1 pacienta (1,5 % z celkového souboru pacientů; 1,3 % z celkového počtu lézí), lokalizována byla na spodině dutiny ústní. Ve skupině B se objevila recidiva u 3 pacientů (4,6 % z celkového souboru pacientů; 3,9 % z celkového počtu lézí) s lokalizací po jednom ložisku na alveolárním výběžku, patře a retromolární krajině. Rozdíl výskytu recidiv ve skupině A a B byl statisticky nesignifikantní pro t-test [ $t(74) = -0,394$ ;  $p = 0,695$ ] i pro M-W test [ $z = -0,396$ ;  $p = 0,692$ ].

Kontrola po 3 měsících prokázala recidivu u 2 pacientů (3 % z celkového souboru pacientů; 2,6 % z celkového počtu lézí). Ve skupině A jsme neprokázali žádnou recidivu. Ve skupině B se recidiva objevila u 2 pacientů (3 % z celkového souboru pacientů; 2,6 % z celkového počtu lézí), lokalizována byla na patře a na tváři. Rozdíl výskytu recidiv ve skupině A a B byl statisticky nesignifikantní pro t-test [ $t(74) = -1,027$ ;  $p = 0,308$ ] i pro M-W test [ $z = -1,027$ ;  $p = 0,305$ ].

Kontrola po 6 měsících prokázala recidivu celkem u 5 pacientů (7,6 % z celkového souboru pacientů; 6,6 % z celkového počtu lézí). Ve skupině A se objevila recidiva u 4 pacientů (6,1 % z celkového souboru pacientů; 5,3 % z celkového počtu lézí), recidivy byly lokalizovány 2x na ústní spodině a 2x na jazyku. Ve skupině B se objevila 1 recidiva (1,5 % z celkového souboru pacientů; 1,3 % z celkového počtu lézí) s lokalizací na patře. Rozdíl výskytu recidiv ve skupině A a B byl statisticky signifikantní pro t-test [ $t(74) = 2,279$ ;  $p = 0,026$ ] i pro M-W test [ $z = -2,218$ ;  $p = 0,027$ ].

Při kontrole po 9 měsících od terapie jsme objevili recidivu u 3 pacientů (4,6 % z celkového souboru pacientů; 3,9 % z celkového počtu lézí). Ve skupině A se objevila recidiva

u 2 pacientů (3 % z celkového souboru pacientů; 2,6 % z celkového počtu lézí) s lokalizací v obou případech na jazyku. U skupiny B jsme objevili 1 recidivu (1,5 % z celkového počtu pacientů; 1,3 % z celkového počtu lézí) s lokalizací na tváři. Rozdíl výskytu recidiv ve skupině A a B byl statisticky nesignifikantní pro t-test [ $t(74) = 1,205$ ;  $p = 0,232$ ] i pro M-W test [ $z = -1,201$ ;  $p = 0,230$ ].

Po uplynutí 1 roku od terapie diodovým laserem se objevila recidiva celkem u 2 pacientů, a to v obou případech ve skupině A (3 % z celkového souboru pacientů; 2,6 % z celkového počtu lézí), obě recidivy byly lokalizovány na jazyku. Rozdíl výskytu recidiv ve skupině A a B byl statisticky signifikantní pro t-test [ $t(74) = 2,014$ ;  $p = 0,048$ ] i pro M-W test [ $z = -1,974$ ;  $p = 0,048$ ]. Kontroly po 2 letech prokázaly recidivu celkem u 4 pacientů, opět se vyskytly pouze ve skupině A (6,1 % z celkového souboru pacientů; 5,3 % z celkového počtu lézí). Recidivy i v tomto případě byly lokalizovány 3x na jazyku a 1x na spodině dutiny ústní. Ve skupině B jsme tedy neprokázali žádnou recidivu při kontrolách po 1 roce ani při kontrole po uplynutí 2 let od terapie. Rozdíl výskytu recidiv ve skupině A a B byl významně statisticky signifikantní pro t-test [ $t(74) = 2,975$ ;  $p = 0,004$ ] i pro M-W test [ $z = -2,831$ ;  $p = 0,005$ ].

Ze sledování tedy vyplývá, že u některých lézí se objevila recidiva několikrát. Opakované recidivy byly zjištěny u 2 lézí na jazyku, u 2 lézí na spodině dutiny ústní a po jedné lézi na tváři a patře.

Tab. 3.12. Recidivy z celkového souboru pacientů

Čas kontroly po terapii diodovým laserem	Recidivy z celkového souboru pacientů		Skupina A		Skupina B		Poměr M:Ž
	Počet	%	Počet	%	Počet	%	
1 měsíc	4	6,1 %	1	1,5 %	3	4,6 %	3:1
3 měsíce	2	3,0 %	-----	-----	2	3,0 %	2:0
6 měsíců	5	7,6 %	4	6,1 %	1	1,5 %	3:2
9 měsíců	3	4,6 %	2	3,0 %	1	1,5 %	1:2
12 měsíců	2	3,0 %	2	3,0 %	-----	-----	0:2
24 měsíců	4	6,1 %	4	6,1 %	-----	-----	2:2

Maligní transformaci jsme zaznamenali pouze ve skupině A u 2 pacientů (3 % z celkového souboru pacientů). Dle lokalizace se maligní transformace objevila vždy jen na jazyku (2,6 % z celkového počtu lézí). V závislosti na pohlaví vyšla maligní transformace shodně, tedy poměr M:Ž byl 1:1. Sledování výskytu recidiv a maligní transformace ukazují podrobně tabulka 3.12. a 3.13.

Tab. 3.13. Malignizace z celkového souboru pacientů

	Z celkového souboru pacientů		Skupina A		Skupina B		Poměr M:Ž
	Počet	%	Počet	%	Počet	%	
Malignizace	2	3,0 %	2	3,0 %	-----	-----	1:1

Celkový výsledný terapeutický efekt diodového laseru při léčbě orálních leukoplakií ukazuje tabulka 3.14. (podle počtu pacientů) a tabulka 3.15. (podle počtu lézí). Pro klinické využití bylo důležitější detailní porovnání léčebného efektu diodového laseru při terapii leukoplakií ve skupině A a ve skupině B (srovnali jsme podle počtu lézí, nikoliv podle počtu pacientů v jednotlivých skupinách) při jednotlivých kontrolách, tabulka 3.16. (skupina A) a tabulka 3.17. (skupina B).

Poznámka: Kontroly byly stanoveny při primární terapii leukoplakické léze. Pokud při kontrole byla zjištěna recidiva, přistoupili jsme k terapii recidivy, ale termíny kontroly se nadále vztahovaly k termínu primární terapie, nikoliv k terapii recidivy! Na terapii recidiv nebyl brán zřetel ani při dalším hodnocení, neboť by se soubor výrazně rozštěpil a výsledky by nebyly statisticky přínosné.

Tab. 3.14. Terapeutický efekt diodového laseru u leukoplakií podle počtu pacientů

Čas kontroly po terapii	Počet pacientů	Počet pacientů s recidivou	Počet vyléčených pacientů	Počet pacientů s malignizací leukoplakie	Léčebný efekt
<b>6 měsíců</b>	66	5	61	-----	92,4 %
<b>12 měsíců</b>	66	2	64	-----	97 %
<b>24 měsíců</b>	66	4	62	2	94 %

Tab. 3.15. Terapeutický efekt diodového laseru u leukoplakií podle počtu lézí

Čas kontroly po terapii	Počet lézí	Počet lézí s recidivou	Počet vyléčených lézí	Počet lézí s malignizací leukoplakie	Léčebný efekt
<b>6 měsíců</b>	76	5	71	-----	93,4 %
<b>12 měsíců</b>	76	2	74	-----	97,4 %
<b>24 měsíců</b>	76	4	72	2	94,7 %

Z tabulek 3.16. a 3.17. je patrné, že ve skupině A se recidivy objevují později, s vyšší četností po uplynutí 6 měsíců od terapie. Ve skupině B se recidivy objevily dříve než ve skupině A, nejčastěji do 6 měsíců od primární terapie. Výsledný léčebný efekt při terapii leukoplakií ve skupině A byl znatelně menší než ve skupině B.

Rozdíly efektivity léčby (uvedených v %) skupiny A a skupiny B po kompletní (celkové) terapii jsou statisticky signifikantní při kontrole 6 měsíců [ $\chi^2(1) = 4,986$ ;  $p = 0,026$ ], 12 měsíců [ $\chi^2(1) = 3,950$ ;  $p = 0,047$ ] a významně statisticky signifikantní při kontrole 24 měsíců [ $\chi^2(1) = 8,120$ ;  $p = 0,004$ ] po terapii. V ostatních časových intervalech kontrol byly rozdíly efektivity léčby statisticky nesignifikantní [kontrola 1 měsíc po terapii  $\chi^2(1) = 0,159$ ;  $p = 0,690$ ; kontrola 3 měsíce po terapii  $\chi^2(1) = 1,068$ ;  $p = 0,301$ ; kontrola 9 měsíců po terapii  $\chi^2(1) = 1,462$ ;  $p = 0,227$ ].

Tab. 3.16. Časový vývoj počtu recidiv a malignizace ve skupině A

Čas kontroly po terapii diodovým laserem	Počet lézí	Počet lézí s recidivou	Počet vyléčených lézí	Počet lézí s malignizací leukoplakie	Léčebný efekt
1 měsíc	26	1	25	-----	96,2 %
3 měsíce	26	-----	26	-----	100 %
6 měsíců	26	4	22	-----	84,6 %
9 měsíců	26	2	24	-----	92,3 %
12 měsíců	26	2	24	-----	92,3 %
24 měsíců	26	4	22	2	84,6 %

Tab. 3.17. Časový vývoj počtu recidiv a malignizace ve skupině B

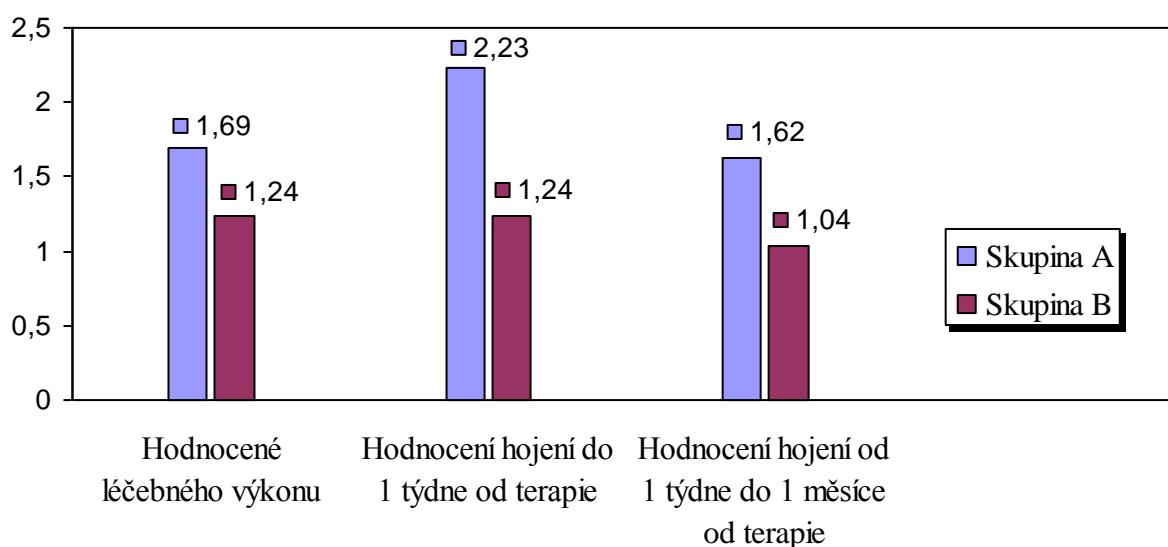
Čas kontroly po terapii diodovým laserem	Počet lézí	Počet lézí s recidivou	Počet vyléčených lézí	Počet lézí s malignizací leukoplakie	Léčebný efekt
1 měsíc	50	3	47	-----	94 %
3 měsíce	50	2	48	-----	96 %
6 měsíců	50	1	49	-----	98 %
9 měsíců	50	1	49	-----	98 %
12 měsíců	50	-----	50	-----	100 %
24 měsíců	50	-----	50	-----	100 %

### 3.5.2. Subjektivní hodnocení

Pacienti hodnotili vlastní léčebný zákrok diodovým laserem a průběh hojení ran po terapii (ve dvou časových intervalech - do 1 týdne od terapie a od 1 týdne do uplynutí 1 měsíce od terapie).

Léčebný výkon diodovým laserem ve škále od 1 do 5 byl v celém souboru pacientů ve studii hodnocen jako 1,4. Ve skupině A pacienti hodnotili léčebný výkon 1,69. Ve skupině B hodnotili pacienti léčebný výkon jako 1,24. Hodnocení léčebného výkonu diodovým laserem ukazuje graf 3.2. (detailní hodnocení terapie podle lokalizace leukoplakií ukazuje tabulka 3.18.). Jak ukazuje graf 3.2., pacienti ve skupině A snášeli terapeutický výkon podstatně hůře než ve skupině B. Podle lokalizace (dle tab. 3.18.) vůbec nejhorší snášenlivost měli pacienti s výskytem leukoplakie na jazyku. Naopak nejlépe snášeli terapii pacienti s leukoplakií na alveolárním výběžku a patře.

Graf 3.2. Subjektivní hodnocení pacienty



Tab. 3.18. Subjektivní hodnocení terapie

	Lokalizace	Hodnocení léčebného výkonu	Hodnocení hojení do 1 týdne od terapie	Hodnocení hojení od 1 týdne do 1 měsíce od terapie
<b>Skupina A</b>	Jazyk	1,86	2,57	1,7
	Ústní spodina	1,5	1,85	1,5
<b>Skupina B</b>	Vestibulum oris	1,5	1	1
	Retromolární krajina	1,25	1	1
	Tvář	1,33	1,16	1
	Horní nebo dolní ret	1,5	1,25	1
	Patro	1	1,5	1,25
	Alveolární výběžek	1	1,4	1
<b>X - průměrná hodnota</b>		<b>1,4</b>	<b>1,58</b>	<b>1,24</b>

Následně jsme sledovali, jak pacienti hodnotili průběh hojení ran po terapii diodovým laserem. (Hodnocení hojení ran ukazuje graf 3.2., detailní hodnocení dle lokalizace ukazuje tab. 3.18.) Hojení ran do 1 týdne od léčebného výkonu opět ve škále od 1 do 5 bylo v celém souboru pacientů hodnoceno jako 1,58. Ve skupině A pacienti hodnotili hojení ran do 1 týdne od terapie jako 2,23. Ve skupině B hodnotili pacienti hojení ran do 1 týdne jako 1,24. Jak ukazuje graf 3.2., hojení ran podstatně hůře snášeli opět pacienti ve skupině A. Dle lokalizace leukoplakie byl nejhůře snášen průběh hojení na jazyku, naopak nejlépe v retromolárové krajině a ve vestibulum oris. Hojení od 1 týdne do 1 měsíce od terapie diodovým laserem bylo v celém souboru pacientů hodnoceno jako 1,24. Ve skupině A hodnotili pacienti hojení od 1 týdne do 1 měsíce jako 1,62. Ve skupině B hodnotili pacienti hojení od 1 týdne do 1 měsíce jako 1,04. I v tomto období je průběh hojení podstatně lépe hodnocen ve skupině B než ve skupině A. Podle lokalizace probíhalo hojení v období 1 týdne až 1 měsíce od terapie opět nejhůře u leukoplakií na jazyku a ústní spodině.

Rozdíly hodnocení jak vlastního léčebného výkonu, tak i průběhu hojení ran po terapii v obou časových intervalech (tj. do 1 týdne od terapie i od 1 týdne do uplynutí 1 měsíce od terapie) ve skupině A a skupině B byly významně statisticky signifikantní ve všech sledovaných časových horizontech ( $p = 0,001$ ); vlastní léčebný výkon [ $t(74) = 3,725$ ;  $p = 0,001$ ], průběh hojení ran do 1 týdne od terapie [ $t(74) = 6,948$ ;  $p = 0,001$ ] a průběh hojení od 1 týdne do uplynutí 1 měsíce od terapie [ $t(74) = 5,891$ ;  $p = 0,001$ ].

Nejhůře byla tedy snášena jak léčba, tak i vlastní hojení leukoplakií na jazyku a na spodině dutiny ústní (tedy skupina A), naopak nejlépe byla snášena léčba na patře a alveolárním výběžku, hojení nejlépe probíhalo v retromolárové krajině a ve vestibulu. Hojení bylo snášeno nejhůře mezi 3.-5. dnem od terapie, po uplynutí 1 týdne se hojení výrazně zlepšovalo. Celková doba hojení většinou nepřesáhla 4 týdny. Pouze u 6 pacientů jsme zaznamenali dobu hojení delší než 4 týdny. Jednalo se o 4 léze na jazyku, o 1 lézi na spodině dutiny ústní. Poslední léze byla lokalizována na linguální ploše alveolárního výběžku. (Poznámka: Zde hojení rány leukoplakie lokalizované na linguální ploše alveolárního výběžku bylo zkomplikováno obnažením kosti, ale se zachováním periostu. Výsledek byl nakonec výborný, protože rána se zhojila ad integrum. Zajímavé bylo, že bolestivost při hojení byla minimální nebo spíše žádná - viz kazuistiky.) V průběhu hojení jsme 2x zaznamenali výraznější otok sublinguální krajiny a jazyka u leukoplakie lokalizované na spodině dutiny ústní, resp. na jazyku.

Otok tkání, který doprovázel hojení po terapii diodovým laserem, byl u většiny pacientů minimální (trvání 1-3 týdny) nebo žádný, bez jakéhokoli omezení zdravotní způsobilosti pacienta. Pokud jsme zaznamenali větší otok, tak byl přítomen po terapii lézí zahrnutých ve skupině A (tedy na jazyku nebo spodině dutiny ústní). U skupiny B byl nepatrný otok zaznamenán na rtu a na tváři. V průběhu naší studie jsme při hojení 2x zaznamenali výraznější otok sublinguální krajiny a jazyka u leukoplakií lokalizovaných právě na spodině dutiny ústní, resp. na jazyku. V těchto případech byl otok největší mezi 3.-5. dnem po terapii a ustoupil do 1 týdne, maximálně do 2 týdnů od terapie diodovým laserem.

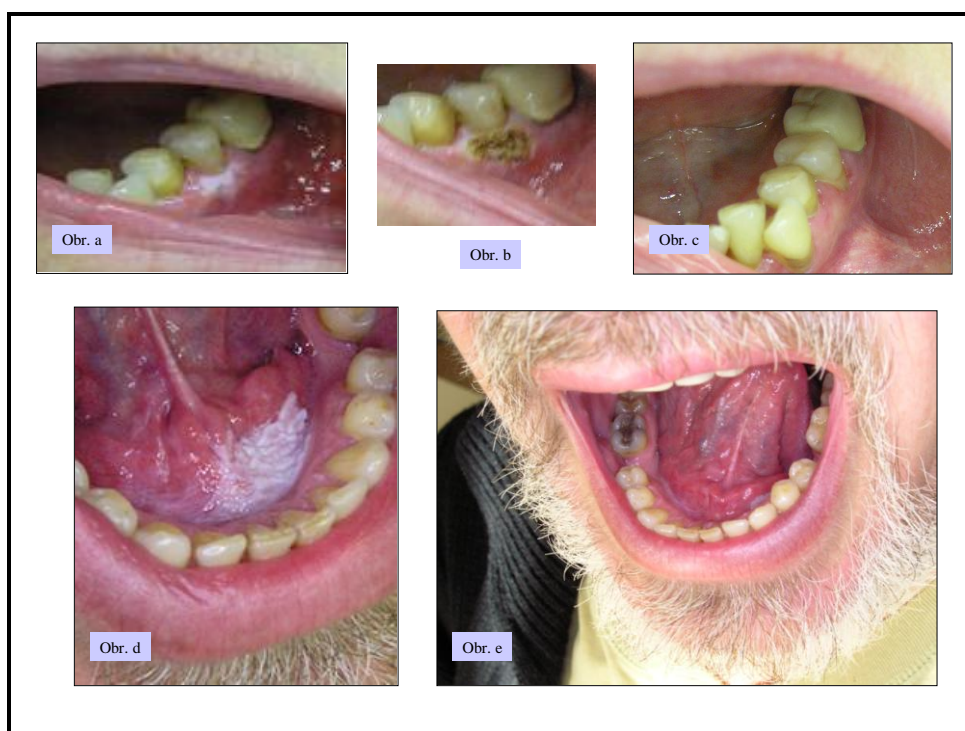
Bolestivost po terapii diodovým laserem byla taktéž minimální. U většiny pacientů, pokud byla bolest vůbec přítomna, tak byla nejvýraznější první 2-3 dny po terapii, další dny výrazně klesala. I v tomto případě byla bolestivost nejvíce vnímána u lézí ve skupině A, kdy bolestivost byla přítomna od 1.-5. dne po terapii. Bolestivost u lézí zahrnutých do skupiny B byla nejvýraznější první den po terapii, následující dny byla již minimální nebo vůbec žádná.

Významná komplikace v průběhu samotného léčebného výkonu diodovým laserem se vyskytla pouze jediná - jednalo se o kolapsový stav pacienta s leukoplakií v retromolárové krajině.

### 3.5.3. Kazuistiky

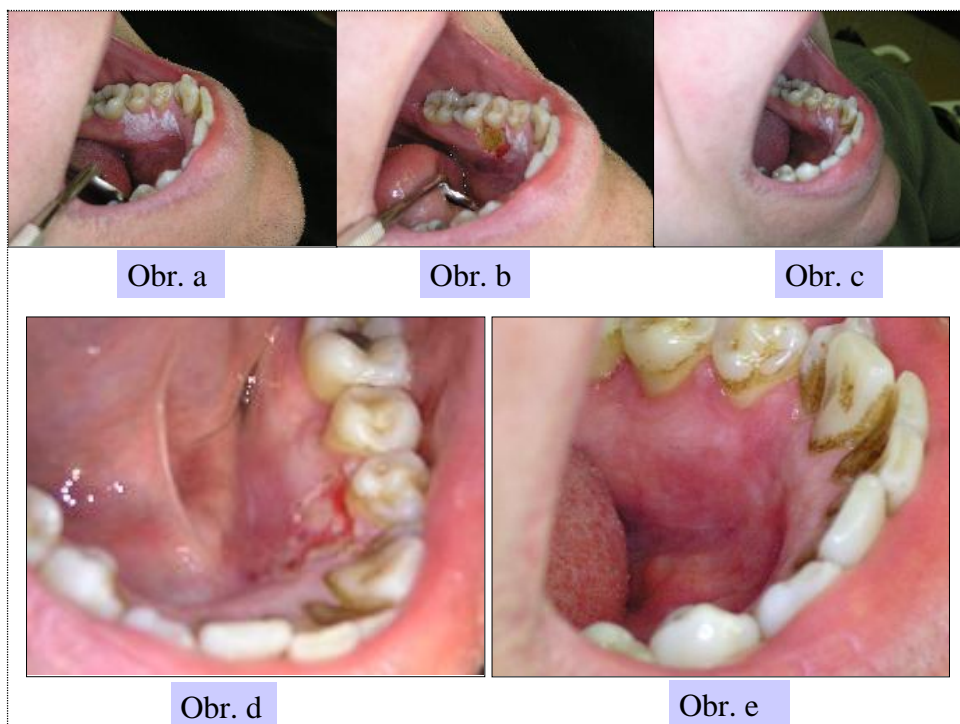
Následující 3 obrázky (obr. 3.4., 3.5. a 3.6.) demonstrují vybrané orální leukoplakie. Obrázek 3.4. (a-c) ukazuje leukoplakii lokalizovanou na alveolární sliznici dolní čelisti vestibulárně od zubu 35 před i po terapii. Obrázek 3.4. (c-d) ukazuje orální leukoplakii na spodině dutiny ústní před a po terapii.

Obrázek 3.5. ukazuje leukoplakii lokalizovanou na linguální ploše alveolárního výběžku dolní čelisti vlevo. Léčebná terapie byla rozdělena do 2 návštěv. Při první návštěvě byla léčena distální část léze, následně byla léčena proximální část léze. V obou případech došlo k obnažení alveolární kosti, ale bez porušení periostu. Výsledný efekt po terapii diodovým laserem ukazuje pak obr. 3.5. (e). Obrázek 3.6. zobrazuje léčbu pacienta s leukoplakií na hraně jazyka.

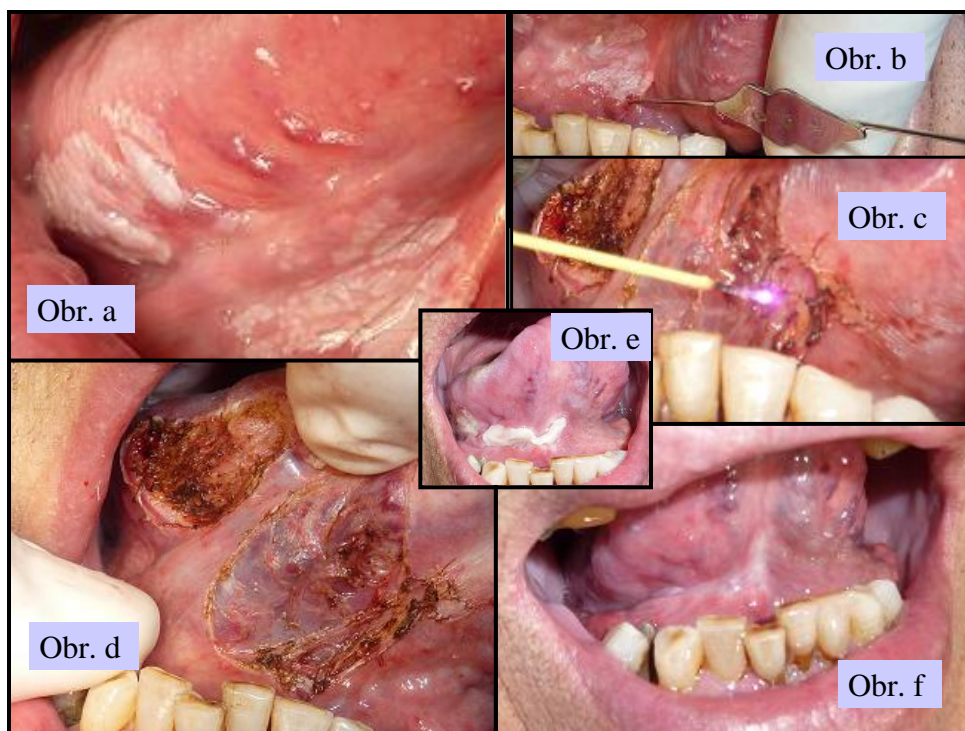


Obr. 3.4. Zobrazení dvou pacientů s orální leukoplakií: obr. (a) stav pacienta před terapií leukoplakie na sliznici alveolárního výběžku dolní čelisti vlevo, obr. (b) stav po právě dokončené laserové intervenci; obr. (c) stav pacienta 1 měsíc po terapii. Obr. (d) ukazuje pacienta s leukoplakií lokalizované na spodině dutiny ústní před terapií; obr. (e) stav téhož pacienta 1 měsíc po laserové terapii.





Obr. 3.5. Obrázek ukazuje pacienta s lokalizací orální leukoplakie na linguální sliznici dolní čelisti vlevo zasahující od špičáku po první stoličku: obr. (a) pacient před terapií; obr. (b) stav pacienta po terapii, která byla zahájena nejprve distální částí leukoplakie; obr. (c) stav pacienta 1 měsíc po laserové intervenci distální části léze. Následně jsme přistoupili k terapii proximální části leukoplakie. Obr. (d) ukazuje pacienta po terapii zbylé části leukoplakie; obr. (e) pacient 1 měsíc od terapii zbylé části leukoplakie. Jak ukazuje obrázek (e), léze byla zhojena s výborným estetickým výsledkem.



Obr. 3.6. Obrázek ukazuje pacienta, u kterého byla orální leukoplakie lokalizována na hraně jazyka: obr. (a) leukoplakie na hraně jazyka před terapií diodovým laserem; obr. (b)



nasondování vývodu podčelistní slinné žlázy, který jsme se v průběhu terapie snažili chránit; obr. (c) vlastní laserová intervence; obr. (d) stav 1 týden po laserové intervenci; obr. (f) stav 3 týdny po laserové intervenci.

### 3.6. Diskuse - leukoplakie

V roce 1978 poprvé použil Ben-Bassat laser k terapii orálních leukoplakií [41]. Pro nespočet výhod při ošetření jsou dnes lasery již běžně indikovány k léčbě orálních leukoplakií, zejména pak CO<sub>2</sub>, Nd:YAG a KTP laser [24, 26, 37, 38, 39].

V naší studii jsme použili diodový laser s vlnovou délkou 980 nm. To mělo několik důvodů. Tato vlnová délka poskytuje poměrně optimální kombinaci mezi koagulací (poskytující hemostázu) a ablací (zajišťující jemnost odstranění). Úmyslně jsme opustili vysloveně ablační lasery (CO<sub>2</sub>, Er:YAG), kde velmi často nebylo možné operovat dostatečně hluboko pro riziko krvácení. Agresivnější lasery (např. Nd:YAG 1064 nm) zbytečně mnoho koagulují, což způsobuje delší hojení. Výhodou diodového laseru je i použití flexibilního laserového vlákna, což je velmi praktické v komplikovaně dostupném malém prostoru dutiny ústní. Naopak CO<sub>2</sub>, Er:YAG lasery mají velmi často artikulované rameno, s kterým se pracuje méně přesně.

Samostatnou otázkou je výběr parametrů laseru. Používáme záměrně kontinuální režim laseru, neboť je to mnohem praktičtější. Pulzní aplikace by byla delší, ale jistě s menším tepelným poškozením. Volba výkonu laseru též souvisí s osobní preferencí lékaře a mírou rizika krvácení v dané lokalitě. Přesné parametry si tedy musí každý lékař zvolit sám dle vlastních zkušeností. S ohledem na riziko maligní transformace orálních leukoplakií je nezbytnou nutností již při primární laserové intervenci být dostatečně radikální. Opakované výkony v oblasti recidivujících leukoplakií mohou zvyšovat riziko malignizace, což nám potvrdila i naše studie.

Pacienti výkony snášeli velmi dobře. Nelze bezprostředně srovnat výsledky s jinou studií pro mnoho odlišných proměnných (zejména typ laseru, lokalizace lézí apod.). Z vlastních zkušeností však musíme potvrdit, že řada pacientů, kteří poznali jak chirurgickou, tak laserovou intervenci, by ve většině případů preferovala laserovou terapii. Výhoda minimálního krvácení, ošetření bez následné sutury rány včetně podstatně kratšího výkonu jsou vlastnosti, které pacienti velmi zřetelně vnímají.

Výsledný efekt léčby nelze přesně srovnávat s jinými studiemi (pro mnoho odlišných proměnných) a ani jej nelze paušálně aplikovat do klinické praxe. Výsledek celkového efektu jsme totiž výrazně modifikovali léčbou recidivy po primární terapii. Nicméně, budeme-li sledovat výskyt recidiv a úspěšnost léčby pouze po primární terapii, dojdeme k zajímavým závěrům. Efektivita léčby v naší studii již po primární terapii je 86,4 % z celkového souboru pacientů a 88,2 % z celkového počtu lézí (bez ohledu na lokalizaci leukoplakie). Závěrem je, že recidiv po 2 letech sledování bylo 13,6 % po primární terapii. Úspěšnost terapie jsme výrazně zvýšili poté, co jsme ihned přistoupili k léčbě recidivy, pokud se objevila. Pak celkový léčebný efekt ještě vzrostl až na výsledných 94 % (z celkového souboru pacientů). Porovnání těchto výsledků nijak nevybočuje od obecně udávaných výskytů recidiv [24, 26, 37, 38, 39, 42], spíše naopak, efektivita léčby je mírně úspěšnější. V tabulce 3.19. pro úplnost

předkládáme souhrn studií několika autorů udávající recidivy orálních leukoplakií po terapii CO<sub>2</sub> a Nd:YAG laseru, které souhrnně dokumentoval ve své práci Ishii [37].

Riziko maligní transformace v naší studii (3 % z celkového souboru pacientů, 2,6 % z celkového počtu lézí) se pohybuje spíše na dolní hranici hodnot, než uvádějí výsledky (tj. 2,6-9 %) jiných studií [24, 26, 27, 28, 34, 36, 37, 38, 43]. To ale automaticky neznamená, že laser toto nebezpečí snižuje. Naše studie měla poměrně malý vzorek pacientů k objektivnímu porovnání a hlavně nelze ani vyloučit, že maligní transformace se může laserovou ablací jen oddálit, proto je nezbytně nutná další dispenzarizace těchto pacientů.

Tab. 3.19. Recidivy orálních leukoplakií po laserové intervenci

Autoři	Rok	Laser	Počet lézí	Počet recidiv	%	Doba sledování (měsíce)
Frame a spol.	1985	CO <sub>2</sub>	75	6	8,0	3-45
Horch a spol.	1986	CO <sub>2</sub>	32	7	21,9	37
Flyn a spol.	1988	CO <sub>2</sub>	20	3	15,0	12-41
Chu a spol.	1988	CO <sub>2</sub>	37	4	10,8	
Chiesa a spol.	1990	CO <sub>2</sub>	121	-----	10,0	12
					21,0	24
					27,0	36
Roodenburg a spol.	1991	CO <sub>2</sub>	103	10	9,7	6-144
Pinherio a spol.	1996	CO <sub>2</sub>	26	2	7,7	3-18
White a spol.	1998	CO <sub>2</sub>	17	4	23,5	-----
		Nd:YAG	22	6	27,2	
Schoelch a spol.	1999	Nd:YAG	55	21	38,1	6-178
Ishii a spol.	2002	Nd:YAG	82	24	29,3	6-288

(Převzato: Ishii J, Fujita K, Komori T. *Laser surgery as a treatment for oral leukoplakia. Oral Oncol* 2003;39:759-769.)

U prekancerózních lézí existují oblasti nejistoty, jako je stanovení přítomnosti a stupně dysplazie. Není jasné, které léze vyžadují léčbu a které naopak stačí pouze dispenzarizovat. Objevují se i názory, že vznik maligní transformace po léčbě není závislý na použité chirurgické metodě [28].

Management orálních leukoplakií zahrnuje vyloučení rizikových faktorů, tj. kouření, s aktivní léčbou (chirurgická excize, lokální cytotoxické reakce, systémová retinoidní terapie, kryochirurgie, laserová terapie), ale žádné nejsou zcela uspokojivé a univerzálně efektivní [44].

### 3.7. Závěr – leukoplakie

Odstranění leukoplakií diodovým laserem je pacienty dobře snášený chirurgický výkon, který poskytuje významný terapeutický efekt (CR, complete response) i po dvou letech od léčebné intervence. Laserová ablace však není absolutní prevencí maligní transformace leukoplakií, proto je nezbytně nutné pacienty i po tomto ošetření nadále pravidelně dispenzarizovat, v případě sebemenších pochybností z možné malignizace léze provést vždy včasnou histopatologickou kontrolu a dle výsledku eventuálně naplánovat další

postup terapie. Naše výsledky potvrdily, že vyšší riziko maligní transformace, výskyt recidiv i horší snášenlivost laserové intervence pacienty je na jazyku a spodině dutiny ústní oproti ostatním lokalizacím orálních leukoplakií.

## **4. Laserová intersticiální hypertermie (laserem-indukovaná termoterapie, LITT)**

### **4.1. Minimálně invazivní metody**

K minimálně invazivním metodám v paliativní terapii nádorových onemocnění založených na tepelné ablací řadíme radiofrekvenční ablací, laserem-indukovanou termoterapii (laserová intersticiální hypertermie, LITT) a mikrovlnnou ablací [45].

Radiofrekvenční ablace jsou metody, které používají magnetické zdroje energie s frekvencí nižší než 900 kHz. Elektronové sondy jsou do nádoru umístěny perkutánně nebo při otevřených operacích. Dochází k průchodu střídavého vysokofrekvenčního proudu. Změny v energetickém stavu molekul pak vedou k lokalizovanému zvýšení teploty (dosahujících přibližně až 90 °C). Intersticiální termoterapie využívá světla, které se mění v cílové tkáni v teplo a výsledkem působení je tepelné poranění tkáni (podrobněji viz text níže). Mikrovlnná termoterapie používá magnetické zdroje energie s frekvencí větší nebo rovnou 900 kHz. Při terapii nádorů jater se využívá generátorů, které pracují při frekvenci 2000-3000 MHz. Elektromagnetické záření je dodáváno do nádoru jehlou. Dochází k „promíchávání“ molekul vody v buňce, což způsobuje fiktivní vytápění (produkují tkáňové teploty mezi 60-100 °C). Při ultrazvukové ablací je energie aplikována extrakorporálně nebo přímo aplikací jehly. Ultrazvukové vlny jsou jako zvuková energie absorbovány tkání a ukládány jako teplo. High intensity focused ultrasound (HIFU) je extrakorporální technika, která se nejčastěji používá pro ultrazvukovou ablací nádorů jater (frekvence 0,8-1,6 MHz) [46].

### **4.2. Laserová intersticiální hypertermie („ČÁST B“)**

#### **4.2.1. LITT: definice, obecné aspekty**

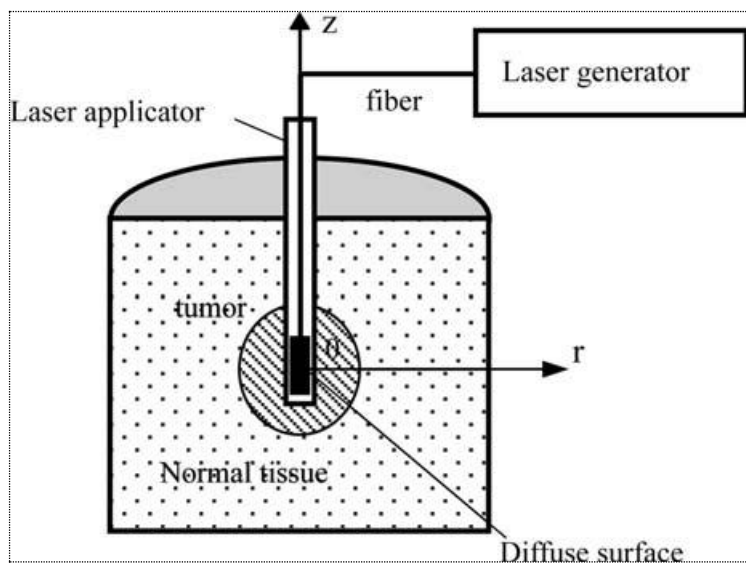
LITT je nová neinvazivní metoda využívaná pro léčbu různých typů nádorů (jater, mozku, plic, hlavy a krku) a slibné aplikace se ukazují i v léčbě benigní hyperplazie prostaty [47]. Je založena na intersticiálním tkáňovém poškození laserovou koagulací, stejně jako hypertermie, a poprvé byla popsána v roce 1983 (Bown) [48]. Od té doby bylo publikováno několik experimentálních a klinických studií LITT jater, pankreatu, prostaty, hlavy a krku, mozku. Slibné výsledky byly hlášeny v časných klinických studiích u hepatocelulárního karcinomu, u jaterních a mozkových metastáz, u nádorů ledvin a retroperitonea, u kostních lézí (osteoidní osteom) [49].

LITT se provádí vložením rozptylujícího laserového aplikátoru do nádoru, jak je schematicky znázorněno na obr. 4.1. Laserové světlo je aplikováno o malé energii (1-5 W) po dlouhou expoziční dobu (3-45 minut), což vede ke zvýšení teploty v cílové tkáni [47].

#### **4.2.2. LITT: historie**

Koncept léčby tumoru založený na teple je starověký. První zmínka o využití tepla se nachází již 1700 př. n. l. v Chirurgickém Papyru Edwina Smithe. Vlastnosti tepla byly také

široce využívány ve starověkém Řecku a Římě [50]. Ve snaze minimalizovat rizika generalizované hypertermie byly hledány neinvazivní techniky, jako radiofrekvenční proud, mikrovlny a ultrazvuk, které vyvolávají hypertermie v konkrétních cílových orgánech [51]. Další rozvoj byl zapříčiněn popsáním laseru v roce 1960 (Maiman) [6]. Laserové světlo je možné přenášet tenkým pružným vláknem (0,1-0,4 mm) a tímto jej dodat k cílové tkáni při chirurgické, endoskopické nebo perkutánní aplikaci. Tím je pak laserové záření dodáváno do cílové tkáně s velkou přesností a s minimální ztrátou výkonu [50]. Princip laserové intersticiální hypertermie je jednoduchý a poprvé byl popsán v roce 1983 po aplikaci Nd:YAG laseru, kdy jde o zavedení laserového vlákna do cílového orgánu [48].



Obr. 4.1. Schématický diagram LITT pro terapii v biologických tkáních.

(Převzato Jiang SC, Zhang XX. *Effects of dynamic changes of tissue properties during laser-induced interstitial thermotherapy (LITT)*. *Lasers Med Sci* 2005;19:197-202.)

#### 4.2.3. LITT: princip

Primární mechanismem interakce chirurgických laserů na tkáň u laserové intersticiální hypertermie je fototepelné působení, tj. absorbovaná energie se mění v teplo. Účinek laseru na tkáň stanovují optické, chemické a mechanické vlastnosti cílové tkáně a charakteristiky dopadajícího světelného paprsku, které jsou dány jeho vlnovou délkou, režimem laserového provozu, časem plánované expozice [50, 52].

Cílem tepelné ablace nádoru je zničit nádorové buňky minimálně invazivním způsobem bez poškození okolních vitálních struktur. Základní parametr řídící destrukci tkáně je teplota. Proto je důležité pochopit, jak teplo působí na tkáň a jak způsobí buněčnou smrt. Buněčná smrt nastane prostřednictvím tepelně navozené koagulační nekrózy. Je popisována rovnicí:

$$\text{koagulační nekróza} = \text{energie vložená} \times \text{místní tkáňová interakce} - \text{tepelné ztráty} \quad [53].$$

Parametry (tkáňové vlastnosti, optické parametry) mohou sloužit k výpočtu tzv. kritické teploty (tj. teploty, při které 63 % proteinu denaturuje po 1 s), která je brána jako práh

ireverzibilního (nevratného) poškození tkáně [54]. Kritické teploty se pohybují mezi 60-82 °C pro různé biologické tkáně. Rostoucí teploty jsou doprovázeny snížením absorpčního koeficientu a anizotropního faktoru a růstem rozptylového koeficientu (tyto změny jsou signifikantní pouze v rozmezí teplot 50-65 °C) [55].

#### 4.2.4. Lasery používané při LITT

Nejčastěji používanými lasery při LITT jsou Nd:YAG a diodové lasery. V roce 1990 se diodové lasery (800-980 nm) staly komerčně dostupnými. Atraktivní pro lékařské aplikace jsou hned z několika důvodů:

- lehké,
- přenosné velikosti,
- nižší pořizovací a provozní náklady,
- delší provozní životnost,
- lepší pracovní podmínky [55].

#### 4.2.5. Indukce koagulační nekrózy

Hlavním konceptem tepelné ablace je zničit celou nádorovou tkáň (tj. maligní buňky) pomocí tepla bez poškození (nebo alespoň s minimálním poškozením) přilehlých životně důležitých struktur. Tato terapie často zahrnuje okraj zdánlivě zdravé tkáně přiléhající k nádoru v rozsahu minimálně 0,5-1 cm. Jedná se o bezpečnostní lem, který má zajistit dostatečný rozsah terapie z důvodu nejistoty rozpětí nádorového ložiska (tj. odstranění mikroskopického ohniska choroby). Nejdůležitějším parametrem je teplota [49].

Účinky lokální hypertermie jsou závislé na teplotě dosažené v tkáni. Teplota je pak určena celkovou dodanou tepelnou energií, rychlostí odvodu tepla a měrnou tepelnou citlivostí tkáně. Destrukce tkáně závisí na bilanci tepelných účinků, změně cévní permeability a na složitých procesech zahrnujících stimulaci mediátorů zánětu a imunitní reakce. Buněčná homeostáza může být udržována při zvýšení teploty cca do 40 °C. Je-li teplota zvýšena na 42-45 °C (hypertermie), buňky se stávají již náchylnější k poškození různými prostředky (např. chemoterapie, záření).

Je-li teplota 46 °C po dobu 60 minut, dochází již k nevratnému poškození buněk. Teploty mezi 50-52 °C výrazně zkracují čas k vyvolání toxicity na 4-6 minut. Teploty mezi 60-100 °C způsobují proteinovou koagulaci, dochází k nevratnému poškození klíčového cytosolu, mitochondriálních enzymů a nukleových kyselin. Buňky jsou v tomto rozsahu teplot již značně poškozovány, dochází ke koagulační nekróze v průběhu několika dní. Koagulační nekróza v podstatě znamená nevratné tepelné poškození buňky. Teploty nad 105 °C způsobují var, odpařování a karbonizaci. Vaporizace je výsledkem odpaření tkáňové vody a nastává mezi 100-300 °C. Tkáňové zuhelnatění (karbonizace) nastává při 300-1000 °C. (Viz také kapitola 2.7. Laserové režimy: fototermický mechanismus.) Klíčovým cílem pro ablační terapii je dosažení a udržení teploty mezi 50-100 °C v celém rozsahu cílového tkáňového objemu. Vysoký průtok krve ve velkých cévách může rozptýlit teplo a tím chránit přilehlé tkáně a cévní endotel před tepelným poškozením [46, 49, 53, 56].

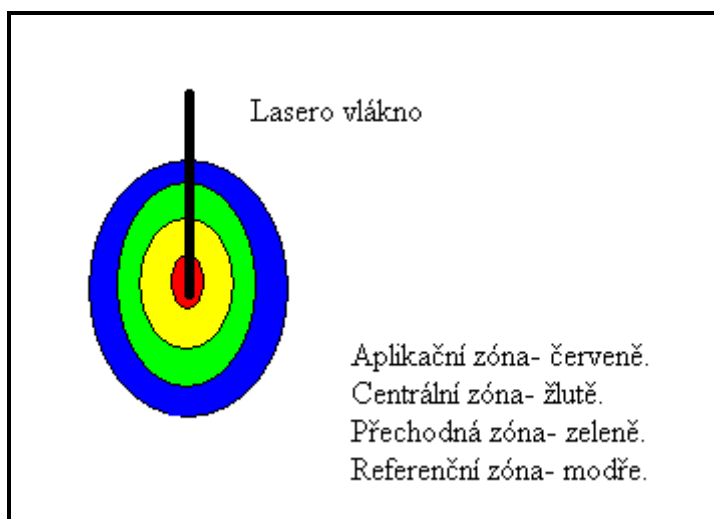
Cílem LITT je tepelně indukovaná akutní koagulační nekróza. Během terapie je nutné, aby se zabránilo extrémnímu ohřevu, který může vést až k super-ohřívání, následkem je odpařování tkáně, formace dutin nebo poškození tkáně, která není cílem léčby. Aby bylo možné minimalizovat riziko těchto účinků, je nutné kontrolovat tkáňovou teplotu nejen na okrajích léze, ale také v blízkosti aplikátoru (MRTI, tj. MRI-tepelně založené terapeutické systémy, které poskytují přesně řízené tepelné poranění na základě zpětnovazebné regulace ohřevu) [57]. Tyto sofistikované systémy (MRTI) monitorují teploty a rozložení světelné distribuce v rámci tkáně. Tepelně zprostředkovaná nekróza závisí na dosažené teplotě a času aplikace tepla v cílové tkáni. Teplotní čidla sledují průběžně cílovou tkáň a při změně teploty (pokles nebo růst nad stanovené limity) upravují výstup laseru pro obnovení nastavení požadované teploty. Tím je možné dosáhnout stabilní teploty v požadovaném objemu tkáně [50].

#### 4.2.6. Tkáňové efekty: morfologická architektura (obr. 4.2., 4.3.)

Po laserové aplikaci je zřetelná morfologická architektura, která se skládá ze 3 až 4 poměrně ostře ohraničených zón:

- aplikační (kontakt zdroje tepla s tkání),
- centrální (poškozená tkáň),
- přechodná (nepoškozená tkáň, ale vykazuje známky subakutního krvácení),
- referenční zóna (normální zdravá tkáň).

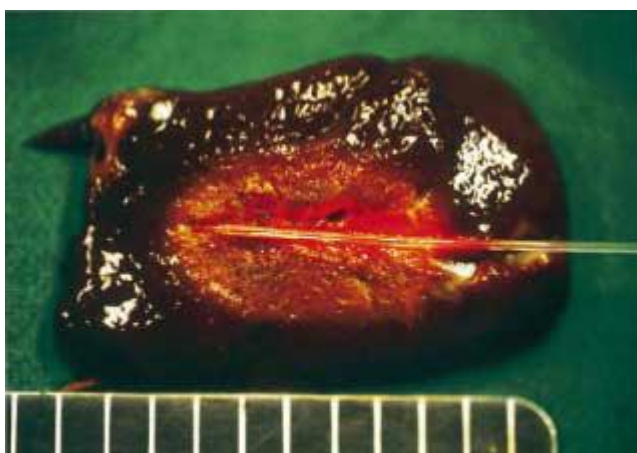
Aplikační zóna je tvořena hemorrhagickou pseudodutinou, která se vytváří v bezprostředním kontaktu koncovky laserového vlákna s cílovou tkání (teploty větší než 100 °C). Obsahuje fibrin a nečistoty ze spálené a karbonizované tkáně. Centrální zóna se skládá z hustě koagulované tkáně, buňky a cévy jsou zničeny (teploty nižší než 100 °C). Přechodná zóna má stejné vlastnosti jako hustě koagulovaná tkáň, kromě toho tato zóna je rozptýlená pronikáním intersticiální tekutiny. Referenční zóna je charakterizována edémem, skládá se ze životaschopné tkáně, která je ostře ohraničená od rozptýlené koagulační tkáně [46, 58].



Obr. 4.2.: Morfologická architektura po laserové intersticiální hypertermii

Cévní změny v rozsahu teplot 40-42 °C jsou bez významných odchylek. Při teplotách 42-44 °C dochází k nevratnému snížení nádorového průtoku krve (stáza, trombóza). Při teplotách nad 60 °C dochází k úplnému zničení nádorové mikrocirkulace [46].

V prvních 48 hodinách po LITT se celková velikost léze zvětšuje s koeficientem 1,2-1,5 a dosahuje maxima za 48 hodin po ozáření. Tento jev je po hypertermii přičítán dalšímu odumření buněk na okraji léze, které je způsobeno periferním edémem a/nebo poruchou mikrocirkulace na periferii. V prvním týdnu po ozáření centrální zóna koagulace podléhá nekróze a startují resorpční reakce z periferie (infiltrace neutrofilů, růst a proliferace kapilár, transformace makrofágů apod.). Na periferii léze se edém šíří do přilehlých nenádorových tkání. Za 1 týden je přítomna granulační tkáň, která obklopuje nekrotické zóny a postupuje směrem ke středu. Do 14. dne se léze zmenší až o 50 %. Následující týden v centru nekrózy vzniká cystický defekt [46].



Obr. 4.3. Koagulovaná léze ex vivo u prasete. Po laserové terapii Nd:YAG laserem (6 W trvání 6 minut) byla játra rozdělena a okolo laserového vlákna je zřetelná oblast koagulace (maximální délka 36 mm, průměr 26 mm).

(Použito: **Heisterkamp J, van Hillegersberg R, Ijzermans JNM. Interstitial laser coagulation for hepatic tumours. British Journal of Surgery 1999;86:293-304.**)

Zobrazení fyzikálních a biologických účinků tepla při vystavení tkáně různým teplotám ukazuje tab. 4.1.

Lokální hypertermické poškození se vyskytuje ve dvou odlišných fázích:

- První fáze vychází z přímého poškození teplem (přímý účinek hypertermie), které je závislé na dodané celkové tepelné energii, biologii nádoru a mikroprostředí nádoru. Nádory jsou náchylnější k tepelnému poranění než normální buňky (výsledek specifických biologických vlastností, snížení schopnosti tepelných ztrát, nižší intersticiální pH). Nádory mají větší podíl buněk v mitotické nebo S-fázi replikace, mají nižší mitochondriální „úroveň“, redukci ATP a nižší příjem kyslíku oproti normální buňce. Požadavek na spotřebu kyslíku se při vzrůstající teplotě (45 °C) zvyšuje a tím roste i náchylnost tumorů k poškození. Teplo je absorbováno hemoglobinem v erytrocytech a následně odváděno krevním průtokem, dochází tak k ochlazení tkáně. Není tedy překvapením, že oblast selhání hypertermie je v místech, kde je průtok krve největší. Tkáňová hypoxie a nízké pH se podílejí na zvýšení citlivosti na teplo. Hypertermie zhoršuje tkáňovou hypoxii, zvyšuje metabolismus a



snížením dodávky kyslíku vede k hromadění metabolitů. Vlivem špatného cévního zásobení a odvodu metabolitů se zvyšuje intracelulární i extracelulární kyselost v nádoru. Pokles pH v nádoru vede k dalšímu snížení průtoku krve, a dochází tak k poruše mikrocirkulace [46].

- Druhá fáze vychází z nepřímého poškození tkáně (nepřímý účinek hypertermie), které je způsobeno po ukončení iniciálního tepelného stimulu. Progresivní poškození zahrnuje rovnováhu několika faktorů, tj. apoptózu (zvyšuje se v závislosti na teplotě), mikrovaskulární poškození (poškození endoteliálních buněk zvyšuje přilnavost cévní stěny, propustnost a viskozitu krve, výsledkem je vznik trombóz a poškození tkáně), ischemicko-reperfúzní poškození (snížení průtoku snižuje pH, výsledkem je progresse poškození buněk), aktivaci makrofágů (fagocytóza), změny cytokinů (zvýšená produkce IL-1 a TNF- $\alpha$ ) a změny v imunitní odpovědi (zvýšení činnosti T-lymfocytů a makrofágů) [46].

**Tab. 4.1. Vliv teploty na tkáň (fyzikální a biologické efekty):**

Teplotní rozsah (°C)	Minimální časová expozice	Fyzikální jevy	Biologické efekty
42–60	30–60 minut	Bez fyzikálních změn	Deaktivace enzymů, poruchy mitochondriálních funkcí
60–140	Sekundy	Koagulace, ablace	Denaturace proteinů, ruptury membrán, buněčná ztráta objemu - smrštění, pyknóza, hyperchromazie
100–300	Sekundy	Vaporizace, vaporizace vody	Vaporizace (vypařování, voda $\rightarrow$ pára), smrštění buněk
>300	Zlomek sekundy	Karbonizace, ablace, zuhelnatění	Karbonizace

(Převzato: Nikfarjam M, Muralidharan V, Christophi C. *Mechanisms of Focal Heat Destruction of Liver Tumours. J Surg Res* 2005;127:208-223.)

#### 4.2.7. LITT a zobrazovací techniky

Zobrazovací techniky (ultrazvuk, CT, MRI) v průběhu laserové intersticiální hypertermie mají tři zásadní úlohy:

- zacílení cílové tkáně;
- monitorování nekrózy během ošetření;
- detekci zbytkového nebo recidivujícího onemocnění.

Zobrazovací techniky umožňují lepší zacílení léze, která má být ošetřena, tím zlepšují a zpřesňují vlastní terapii se zachováním nebo s co nejmenším poškozením zdravé tkáně. Dále umožňují kontrolu (vedení energetického depozita) po dobu trvání léčebného plánu (tj. udržet rozmezí teplot mezi 50-100 °C v celém rozsahu léčeného objemu tkáně). Po ukončení terapie usnadňují zhodnocení celkové léčebné odpovědi, efektu léčby a výsledků terapie, včetně důležitého stanovení zbytkového nebo recidivujícího onemocnění.

- Ultrazvuk je široce používaná monitorovací technika (dostupná, levná, jednoduchá, hospodárná). Umožňuje dobrou vizualizaci umístění aplikátoru, užitečná je i schopnost intrakavitálně zacílit endoluminální snímač. Omezení je dáno špatnou

viditelností ve strukturách obsahujících kost a plyn. Pro zobrazení terapie je nejméně využitelná (přítomnost plynu). Detekuje tkáňové změny v důsledku koagulační nekrózy. Nicméně zobrazovací artefakty jsou časté a mohou způsobit problémy při rozlišování reverzibilních a ireverzibilních poškození. Lépe se jeví UZ hodnocení cévního průtoku pomocí Dopplerovské-sonografie, která umožňuje lepší přesnost zobrazení, včetně lepšího posouzení perfúze tkáně, a detekci reziduálního onemocnění.

- Počítačová tomografie (CT) spadá mezi ultrazvuk a MRI s ohledem na náklady, kontrast tkáně a složitost metody. Hlavní úloha CT je v detekci zbytkového nebo recidivujícího nádoru po LITT. V reálném čase je CT nepřesné při odhalování časných známek laserem indukovaného poškození tkání. Nicméně kontrastní CT prováděné po 24 hodinách po LITT dokáže identifikovat odumření tkáně jako neprokrvené oblasti a úzce koreluje s histologickým nálezem. Reziduální choroba se na CT zobrazuje jako oblast se zvýšeným kontrastem v neperfundované tkáni.
- Magnetická rezonance (MRI) obecně poskytuje nejlepší rozlišení oblasti tumor - tkáň. Tato technologie je poměrně nákladná (s vysokými provozními náklady), vyžaduje specializované zařízení a je nejméně vhodná pro obecné klinické použití. Použití MRI je nejvhodnější pro monitorování léčby, protože nejpřesněji posuzuje laserem indukovanou nekrózu a má největší korelaci s histologickým obrazem. MRI umožňuje optimalizaci výkonu laseru, dobu působení (tj. optimalizuje odpovídající zvýšení teploty), aby výsledkem byla kompletní nekróza nádoru. Detekuje změny teploty na méně než 1 °C s prostorovým rozlišením méně než 2 mm (Tato detekce je velmi přesná při teplotách mezi 35-50 °C. Při teplotách nad 50 °C, vzhledem ke změnám vlastností tkání, je přesnost snížena.). MRI je vhodná pro detekci reziduálních a recidivujících tumorů. Gadolinium MRI dokáže již za 24 hodin detekovat zbytkový nádor v přechodové zóně mezi tepelně poškozenou a nepoškozenou tkání. Recidiva onemocnění je pak na MRI nejlépe detekovatelná nejméně za 2 týdny po LITT [49, 56, 59, 60].

#### **4.2.8. Klinické využití**

Výhody ablativní terapie ve srovnání s chirurgickou resekcí jsou:

- snížení nemocnosti a úmrtnosti,
- nízké náklady,
- vhodnost pro zobrazování navádění v reálném čase,
- schopnost provádět ablační výkony ambulantně [49].

##### **4.2.8.1. Jaterní nádory (metastázy)**

Indikací k laserové intersticiální hypertermii jsou primární a zejména sekundární nádory jater, které nemohou být léčeny chirurgicky.

Kolorektální karcinomy jsou jedním z nejčastějších malignit na světě. Jedním z nejdůležitějších prognostických faktorů v průběhu onemocnění je výskyt metastáz, nejčastěji do jater. U pacientů s metastatickým postižením jater u kolorektálního karcinomu je dlouhodobé přežití a potenciální léčba v současné době možná odstraněním tumoru buď resekcí, nebo ablací. Jaterní resekce zůstává metodou volby u pacientů s ojedinělými

metastázami v játrech, ale je možná pouze u 10-20 % pacientů. Hlavním limitem k resekcímu výkonu je anatomická poloha a rozsah metastazujícího onemocnění. Chirurgická resekce primárních a sekundárních nádorů jater vede ke zlepšení 5letého přežití o 20-40 %. Operační výkon je spojen s vysokým rizikem, významnou morbiditou a podílem recidiv 40-80 %. Hledala se alternativa k radikální chirurgické resekcí u pokročilých jaterních metastáz, které nemohly být léčeny chirurgicky. Lokální destrukce teplem se ukázala jako účinná léčebná strategie u vybraných pacientů se zhoubnými nádory jater. Zničení jaterních metastáz LITT tak nabízí alternativu k resekcí. Jde o minimálně invazivní metodu, která umožňuje zničení nádoru s minimálním poškozením okolního funkčního jaterního parenchymu. Taková terapie zvyšuje celkový počet pacientů s jaterními metastázami vhodných k potenciálně kurativnímu výkonu jednou modalitou nebo kombinací s jaterní resekcí. U vybraných pacientů s hepatocelulárním karcinomem (HCC), jaterními metastázami tlustého střeva a konečníku a dalších typů jaterních malignit může zlepšit přežití do té míry, že je podobné chirurgické resekcí. LITT je minimálně invazivní metodou, reprodukovatelnou a zlepšuje přežití u vybrané skupiny pacientů ve srovnání s neléčenými pacienty [46, 56, 61, 62, 63].

#### **4.2.8.2. Nádory mozku**

V roce 1990 Sugiyama a spol. podali první zprávu o intersticiální laserové terapii mozkových nádorů [64].

Chirurgická léčba nádorů CNS je stále problematická v místech, které jsou špatně anatomicky i technicky přístupné. Minimálně invazivní techniky byly vyvinuty ke snížení vedlejších účinků, jako je poškození funkčně důležitých oblastí mozku. LITT umožňuje léčbu malých, hluboko uložených intrakraniálních nádorů, které by jinak byly inoperabilní. Je vhodná k terapii dobře definovaných nádorů (např. sférické metastázy, primární intrakraniální nádory v nepřístupném terénu), ovšem bez efektu jsou u infiltrativních tumorů. Terapie mohou být prováděny opakovaně a na různých místech v mozku. Výsledky ukazují, že LITT (za použití Nd:YAG laseru) je jednoduchá a relativně účinná metoda v léčbě malých hluboko uložených nádorů mozku s minimálním rizikem a téměř žádnými komplikacemi v průběhu i po výkonu. MRI slouží jako nejslibnější zobrazovací metoda ke sledování průběhu LITT u nádorů mozku. Okraj granulační tkáně se formuje po jednom týdnu a edém se šíří dále na periferii. Výsledné laser-indukované léze mozku ukazují typickou architekturu s centrální nekrózou na okraji obklopenou edémem, vyúsťující poté v cystický defekt s resorpčními a regenerativními změnami [58, 65, 66, 67, 68].

#### **4.2.8.3. Urologie**

Indikační spektrum LITT v urologii je laserová léčba benigní hyperplazie prostaty (BHP) a intersticiální ablace renálních karcinomů. Jak populace stárne, u většiny mužů se projevuje symptomatologie benigní hyperplazie prostaty. Zlatým standardem pro léčbu BPH je transuretrální resekce prostaty (TURP), která vyžaduje spinální, epidurální nebo celkovou anestézii a obvykle 1-2 dny pobytu v nemocnici. Vysoké chirurgické riziko, komplikace (krvácení, infekce, dlouhodobá katetrizace, TURP syndrom, striktura uretry) a úmrtnost omezily použití této metody. V první linii tak vévodí farmakoterapie. Novější minimální invazivní terapie jsou zaměřeny na poskytování alternativy k farmakoterapii a TURP. Všechny minimálně invazivní terapie jsou vyhrazeny pro pacienty se středně závažnými až

závažnými symptomy BHP, u kterých nebyla úspěšná lékařská terapie, nemohou tolerovat lékařskou terapii nebo mají nežádoucí účinky farmakoterapie. Intersticiální laserová koagulace je spojena s minimální morbiditou a rozumnou efektivitou. Transperineálně nebo transuretrálně pomocí cystoskopu a Nd:YAG (1064 nm) nebo diodového laseru (980 nm) se zavede jednorázové vlákno přímo do adenomu prostaty. Tyto minimálně invazivní metody jsou považovány za alternativy, ale ne za náhradu za TURP, vedou k zmírnění symptomů a/nebo obstrukce [4, 69, 70].

#### **4.2.8.4. Kolorektální karcinom**

Laserová intersticiální hypertermie vysoce výkonným diodovým laserem je efektivní způsob poskytování paliativní léčby pro obstrukci, krvácení a vylučování u pacientů s inoperabilním kolorektálním karcinomem. Výsledky s diodovým laserem jsou srovnatelné s výsledky s Nd:YAG laserem (avšak diodový laser je zařízení, které je oproti Nd:YAG laseru podstatně levnější, kompaktnější a hlavně přenosnější) [71].

#### **4.2.8.5. Nádory hlavy a krku**

##### **4.2.8.5.1. Nádory hlavy a krku: úvod**

Každý rok je okolo 50 000 [72] nových případů nádorů ústní dutiny v celé Evropě s průměrným výskytem (incidence) 13 na 100 000 osob [73]. Celosvětově je celkový počet nových případů nádorů dutiny ústní přibližně 212 000 za rok a míra úmrtnosti je 137 000 [74]. Největší výskyt je v Indii, kde v roce 1990 bylo více než 80 000 případů s 50 000 úmrtí [75]. Hlavní predisponující faktory jsou kouření a alkohol (má potencující efekt) [76].

Nosným pilířem léčby časných stádií nádorového onemocnění hlavy a krku je chirurgie a radioterapie (samostatně nebo v kombinaci). Ačkoliv je léčba efektivní, 5leté přežití není uspokojivé, v rozmezí 50 % (tvrdé patro) po 95 % (ret). Chirurgická léčba může i při malém nádoru způsobit funkční a estetické poškození vedoucí až k sociální izolaci. Radioterapie je také často používána, protože má menší vliv na strukturu a funkci, léčba je časově náročnější (event. vyžaduje až 4-6týdenní pobyt v nemocnici) a je spojena s četnými komplikacemi (xerostomie, osteoradionekróza, nekróza měkkých tkání, vaskulární poškození, endarteritis, kožní a podkožní fibróza, trismus měkkých tkání, kostní nekrózy, porucha funkce slinných žláz, porucha chuťového vjemu, změna chemického složení slin vedoucí ke změně složení mikroorganismů a s tím eventuálně spojený i vznik kazů) [77].

##### **4.2.8.5.2. LITT a nádory hlavy a krku**

Kromě použití laserové intersticiální hypertermie v játrech a měkkých tkáňových nádorech, lze LITT použít v léčbě maligních nádorů hlavy a krku. Počáteční léčebnou modalitou nádorů hlavy a krku je vždy primárně chirurgický zákrok, není-li možný, pak je indikována chemoterapie, radioterapie nebo kombinace obou metod. Recidivující benigní a maligní nádory hlavy a krku, zvláště v pokročilých stádiích, mají však omezené možnosti léčby. Chirurgické zákroky v orofaciální oblasti jsou často považovány za velmi obtížné a nebezpečné kvůli blízkosti životně důležitých cév a nervových struktur, včetně agresivní povahy těchto nádorů. Proto se LITT, jako neinvazivní způsob terapie, nabízí jako eventuelní

možnost léčebné volby. Pomocí LITT, kromě zmenšení masy nádoru, dochází k výraznému zlepšení klinických symptomů (otok obličeje, diplopie, rezistentní bolestivý syndrom, příjem stravy, dýchání apod.) [78].

V České republice metodu laserové intersticiální hypertermie zavedli do chirurgie hlavy a krku Šmucler a Mazánek. LITT aplikovali v paliativní léčbě metastáz nádorů hlavy a krku do krčních lymfatických uzlin. K terapii využili diodový laser s vlnovou délkou 980 nm. Laserové vlákno bylo skrz injekční jehlu zavedeno do lymfatické uzliny bez navádění zobrazovací technikou. Ekonomické náklady tak byly minimální. Terapie byla prováděna ambulantně, a to v místním znecitlivění. Sledovali efekt laserové intersticiální hypertermie na zlepšení kvality života u pacientů ve 3. a 4. stádiu nádorů hlavy a krku. Ve výsledcích popisují výrazné zlepšení kvality života u pacientů s primárně nízkou kvalitou života [79, 80].

### **4.3. Hypotézy a cíle LITT**

#### **4.3.1. Hypotézy**

- Laserová intersticiální hypertermie může v rámci paliativní terapie onkologických pacientů v pokročilém stádiu onemocnění zlepšit kvalitu života.
- Předpokládáme, že laserová intersticiální hypertermie může pozitivně ovlivnit stížnosti onkologických pacientů (parametry sledování viz níže), a tak podstatně zpříjemnit kvalitu zbylého života.
- Laserová intersticiální hypertermie bude dobře snášena onkologickými pacienty a u většiny z nich bude možné provést výkon v lokální anestézii, v lepším případě i bez nutnosti hospitalizace (tedy ambulantně).
- Při laserové intersticiální hypertermii může být dobře využitelný diodový laser s vlnovou délkou 980 nm (Cerelas D 25, CeramOptec, Bonn, Německo) pro své nesporné výhody (akceptovatelné pořizovací a provozní náklady, dobrá přenosnost, dlouhá životnost přístroje, snadná ovladatelnost během terapeutického výkonu).

#### **4.3.2. Cíle**

Tato „ČÁST B“ disertační práce je zaměřena na zhodnocení celkového efektu laserové intersticiální hypertermie u onkologických pacientů v pokročilém stádiu nádorového onemocnění. Cílem práce nebylo zhodnotit vyléčení, resp. nevyléčení pacienta, ale zjistit klinický efekt a zejména byl kladen důraz na objektivní vnímání přínosu laserové intersticiální hypertermie pro pacienta samotného. Všeobecně očekávaným cílem laserem indukované intersticiální termoterapie v onkologii je lokální kontrola nádorového růstu se šetřením okolní zdravé tkáně.

Dílčí cíle práce, které byly stanoveny:

- Naplánovat studii s tématem aplikace laserové intersticiální hypertermie u onkologických pacientů v pokročilém stádiu nádorového onemocnění.
- Shromáždit soubor pacientů v terminálním stádiu nádorového onemocnění hlavy a krku, u kterých byly vyčerpány veškeré ostatní možné léčebné metody a kteří budou souhlasit se vstupem do studie a podstoupí laserovou intersticiální hypertermii v rámci paliativní terapie.
- Stanovit parametry sledování, tj. stížnosti udávané přímo onkologickými pacienty (krvácení, dýchání, polykání, řeč, znetvoření, tumorózní masa, bolest, zápach, psychologické hledisko).
- Provést vlastní chirurgický výkon, tj. laserovou intersticiální hypertermii diodovým laserem u tohoto souboru onkologických pacientů.
- Dispenzarizovat pacienty v pooperačním období.
- Zhodnotit vliv laserové intersticiální hypertermie na změny v hodnocení 9 parametrů původně udávaných stížností samotnými pacienty.
- Zhodnotit klinický léčebný efekt.
- Sumarizovat výsledky, závěry.

## 4.4. Materiál a metodika LITT

### 4.4.1. Charakteristika souboru pacientů

V této prospektivní studii, která proběhla v Centru fotonické medicíny Všeobecné fakultní nemocnice v Praze, bylo sledováno celkem 32 pacientů. Jednalo se o pacienty, kteří byli v terminálním stádiu nádorového onemocnění hlavy a krku, kde již byly vyčerpány všechny možnosti komplexní protinádorové terapie. Pacienti byli podrobně seznámeni s léčebnou metodou (podrobně cíleně informováni o charakteru zákroku, tj. že se jedná o paliativní, nikoliv kurabilní zákrok) a podepsali písemný souhlas k provedení výkonu. Tito pacienti by jinak byli dále určeni onkologickým konziliem pouze k symptomatické terapii.

Tab. 4.2. Počet pacientů

Pohlaví	Počet	%	Celkový počet
<b>Muži</b>	20	62,5	32
<b>Ženy</b>	12	37,5	

Tab. 4.3. Věk pacientů

Pohlaví	Průměrný věk	Min.-max.	Průměrný věk	Max.-min.
<b>Muži</b>	60,2 let	44-85	64,2 let	44-97
<b>Ženy</b>	70,6 let	58-97		

Celkový počet pacientů, kteří podstoupili laserovou intersticiální hypertermii diodovým lasem (Cerelas D 25, CeramOptec, Bonn, Germany), bylo 32, z toho bylo 20 mužů a 12 žen. Věkový průměr byl 64 let; u mužů 60,2 (rozmezí minimum - maximum bylo 44-85 let), u žen 64,2 (rozmezí minimum - maximum 58-97) let (viz tab. 4.2. a 4.3.). U všech pacientů, kteří byli sledováni v této studii, byl proveden kompletní staging již v rámci onkologického vyšetření a terapie. Nádory byly hodnoceny dle CT vyšetření a ultrazvuku krku tak, aby mohla být dobře naplánována laserová intervence a zároveň bylo zabráněno možným komplikacím v průběhu i po léčbě.

Dle primární lokalizace se jednalo nejčastěji o nádory spodiny dutiny ústní, jazyka a tváře (viz tab. 4.4.). Dle histologického vyšetření se jednalo ve většině případů o dlaždicobuněčný karcinom (blíže viz tab. 4.5.). Zastoupení jednotlivých nádorů dle TNM klasifikace a třídění do stadií ukazují podrobněji tab. 4.6. a 4.7.

Tab. 4.4. Primární lokalizace nádorů hlavy a krku

Lokalizace	Počet	%
Spodina dutin ústní	8	25,0
Jazyk	5	15,6
Tvář a parotideomaseterická oblast	5	15,6
Horní čelist a patro	4	12,5
Příušní slinná žláza	3	9,4
Orofarynx (zadní stěna) a hypofarynx	2	6,3
Očnice	2	6,3
Tonzila	1	3,1
Horní čelist-tvář-nos	1	3,1
Nezjištěno	1	3,1

Tab. 4.5. Zastoupení nádorů dle histologické verifikace:

Histologie	Počet	%
Dlaždicobuněčný karcinom	23	71,9
Bazocelulární karcinom	5	15,6
Adenoidně cystický karcinom	2	6,3
Adenokarcinom	1	3,1
Ameloblastom	1	3,1

U pacientů v této studii, jak již bylo jednou řečeno, byly vyčerpány veškeré ostatní možné léčebné metody nebo pacienti na dosavadní léčbu adekvátně neodpovídali nebo byli z jiného důvodu k další onkologické léčbě kontraindikováni. Nejčastěji již v minulosti podstoupili chirurgickou resekci a radioterapii, příp. resekci/radioterapii/chemoterapii (viz tab. 4.8.).

Hlavní stížnosti onkologických pacientů v pokročilém stadiu onemocnění byly rozděleny do 9 parametrů (viz tab. 4.9.). Pacienty nejvíce ovlivňovala samotná nádorová masa, psychické hledisko onemocnění a zápach, který je nejvíce omezoval ve společnosti. Poté následovaly obtíže při polykání a s řečí. V poměrně malém zastoupení byl udáván stesk na bolest, zmiňováno pouze 7 pacienty. Jelikož v současné době neexistuje adekvátní

zhodnocení kvality života u pacientů s pokročilým nádorovým onemocněním hlavy a krku po laserové intersticiální hypertermii (nebudeme-li brát v potaz modifikaci Klasifikace University of Washington Quality of Life), byli pacienti požádáni, aby pouze nahlásili povahu stížnosti, nikoliv však její závažnost.

Tab. 4.6. TNM klasifikace:

<b>TNM</b>	<b>Počet</b>	<b>%</b>
<b>Staging: T</b>		
T2	1	3,1
T3	5	15,6
T4	25	78,2
TX	1	3,1
<b>Staging: N</b>		
N0	7	21,9
N1	11	34,4
N2	13	40,6
NX	1	3,1
<b>Staging: M</b>		
M0	20	62,6
M1	5	15,6
MX	7	21,9

Tab. 4.7. Zastoupení dle stadia nádorového onemocnění:

<b>Stadium</b>	<b>Počet</b>	<b>%</b>
Stadium III	5	15,6
Stadium IV	27	84,4

Tab. 4.8. Zastoupení prodělaných terapií v rámci onkologické péče:

<b>Předěslá terapie</b>	<b>Počet</b>	<b>%</b>
Chirurgická resekce/radioterapie	11	34,4
Chirurgická resekce/radioterapie/chemoterapie	11	34,4
Radioterapie/chemoterapie	6	18,8
Chirurgická resekce	2	6,2
Radioterapie	1	3,1
Bez léčby	1	3,1

Cílovou oblastí laserové intersticiální hypertermie byla nejčastěji podčelistní krajina, tvář, dále spodina dutiny ústní a nádory lokalizované v horní čelisti (viz tab. 4.10.). Aplikace LITT byly prováděny téměř z 90 % pouze jednou (viz tab. 4.11.). Většina pacientů (91 %) podstoupila výkon v lokální anestézii, u 3 pacientů byl z medicínského hlediska indikován výkon v celkové anestézii (viz tab. 4.12.). Důvodem byla anatomická lokalizace nádoru v blízkosti velkých cév s rizikem masivnějšího krvácení. Zástava tohoto krvácení by se v místním umrtvení prováděla jistě velmi obtížně.



Tab. 4.9. Stížnosti onkologických pacientů (parametry)

Parametr	Počet	%
Krvácení	13	40,6
Dýchání	16	50,0
Polykání	20	62,5
Řeč	21	65,6
Znetvoření	10	31,3
Tumorózní masa	32	100,0
Bolest	7	21,9
Zápach	24	75
Psychické hledisko	32	100,0

Tab. 4.10. Anatomická lokalizace intervence LITT

Lokalizace	Počet	%
Tvář, parotideomaseterická krajina	6	18,75
Podčelistní krajina	6	18,75
Spodina dutiny ústní	4	12,5
Horní čelist	4	12,5
Lymfatické uzliny	3	9,4
Krční krajina	3	9,4
Očnice	3	9,4
Podbradová krajina	1	3,1
Lalok po rekonstrukční chirurgii	1	3,1
Spodina dutiny ústní a patro	1	3,1

Tab. 4.11.: Počet terapií

Terapie	Počet	%
1x	28	87,5
2x	3	9,4
>2x	1	3,1

Tab. 4.12. Lokální a celková anestézie při LITT

Výkon v celkové anestézii			
Počet	%	Lokalizace	Počet
3	9,4	Krční krajina	2
		Podčelistní krajina	1
Výkon v lokální anestézii			
Počet		%	
29		90,6	

#### 4.4.2. Metodika LITT

Výkon probíhal ve většině případů v lokální anestézii, pouze ve 3 případech byla indikována celková anestézie. Laserovou intervenci předcházela klasická příprava operačního pole (tj. desinfekce a rouškování). V případě lokální anestézie následovala aplikace lokálního anestetika, tj. 4% Supracainu (Zentiva, Praha, Česká republika) nebo 3% Mepivastesinu (3M ESPE, Seefeld, Germany). Při laserové intersticiální hypertermii jsme používali diodový laser (viz obr. 2.7. a tab. 4.13.).

Tab. 4.13. Diodový laser

<b>Diodový laser</b> (Cerelas 25, CeramOptec, Bonn, Německo)	
Vlnová délka	980 nm
Výkon měřený na výstupu	25 W
Výkon nastavitelný	po 1 W
Kvazi-délka pulzu	0,01-99 s
Vedení paprsku	diodový laser 670 nm
Přenos	standardní flexibilní křemíkové vlákno

Do cílové oblasti nádoru byla nejprve vpravena silnější injekční jehla (nebo spinální jehla). V anatomicky obtížnějším terénu (spodina úst, podčelistní, podbradová nebo krční krajina) bylo zavádění jehly kontrolováno pomocí zobrazovací techniky (v našem případě pomocí ultrazvuku). V oblastech, kde by kontrola byla obtížná nebo nemožná (oblast orbity, horní čelisti a tváře), bylo zavedení jehly prováděno bez kontroly naváděcí technikou.



Obr. 4.4. Aplikace laserového vlákna při LITT krčních uzlin.

Do jehly, která byla již zavedena do cílové oblasti nádoru, bylo vloženo laserové vlákno tak, aby konec vlákna, u kterého bylo odstraněno ochranné plastové pouzdro, přesahoval hrot jehly minimálně o 2 mm (viz obr. 4.4.). Následně proběhla vlastní laserová intersticiální hypertermie s aplikací diodového laseru o výkonu 10 (max. 15) W v pulzním režimu (délka pulzu/délka intervalu 0,3/0,3 až 0,5/0,5 sekundy). Pokud byl rozsah nádoru větší, bylo nutné buď z nového vpichu, nebo výhodněji po zavedení jehly dále do tumoru (event. hlouběji do nádoru) hypertermii opakovat. Pokud byla LITT prováděna v blízkosti

větších cév, bylo nutné dodržovat bezpečnou vzdálenost (konec vlákna/céva) minimálně 1 cm od cévy, aby se zabránilo možnému riziku destrukce stěny cévy, které by znamenalo vznik nebezpečného krvácení, které by mohlo ohrozit i život pacienta. V tomto případě se s výhodou osvědčilo použití přenosného cévního ultrazvuku (Doppler). Ke kontrole teploty v průběhu LITT lze použít tepelné sondy a tím zamezit překročení maximální teploty (viz obr. 4.5.).



Obr. 4.5. Tepelná sonda je využívána ke kontrole teploty v průběhu LITT.

Po skončení výkonu nebyl vstup po zavedení jehly uzavírán ani suturou, ani tkáňovým lepidlem. Naopak vstup byl záměrně ponechán, a sloužil tak jako prostor pro drenáž rány. Pokud nebyl výkon prováděn v dutině ústní, byla rána na závěr sterilně překryta. Po LITT v dutině ústní byla oblast laserové intervence ponechána k hojení „per secundam intentionem“.

Bolest obvykle vrcholila 2.-3. den po LITT. K potlačení bolesti vyhovovala běžná analgetika, nesteroidní protizánětlivé léky (NSA), příp. opiáty.

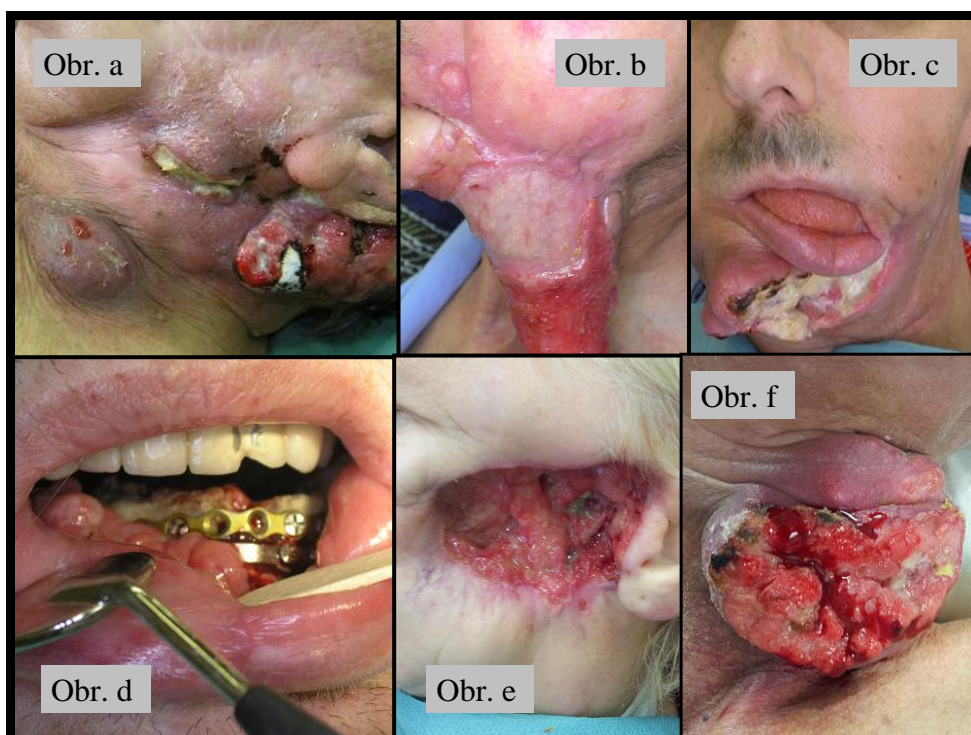
Pooperační hodnocení probíhalo ve dvou odlišných dimenzích. První, které bylo hodnoceno cca 2 týdny po výkonu, se týkalo subjektivního vnímání původně udávaných stížností pacienta. Pacienti byli požádáni o zhodnocení výsledku terapie s ohledem na 9 sledovaných parametrů, zda došlo k nějakému zlepšení, žádné změně nebo zhoršení stavu. Druhé sledování bylo zaměřeno na klinické (makroskopické) zhodnocení léčebného efektu:

- bez efektu, příp. zhoršení stavu,
- minimální odpověď (zmenšení nádorové masy v léčené oblasti < 25 %),
- střední odpověď (zmenšení nádoru < 50 %),
- významná odpověď (zmenšení nádoru > 50 %).

Následující obrázky 4.6. a 4.7. zobrazují anatomické lokalizace intervence laserové intersticiální hypertermie u onkologických pacientů.



Obr. 4.6. Obrázek zobrazuje anatomické lokalizace LITT: obr. a) submentální krajina, obr. b) spodina dutiny ústní, obr. c) krajina retromolárová, podčelistní a krční, obr. d) podčelistní krajina, obr. e) parotideomaseterická krajina, obr. f) očníce.



Obr. 4.7. Obrázek zobrazuje anatomické lokalizace LITT: obr. a) krajina retroaurikulární, submandibulární a krční, obr. b) oblast laloku po rekonstrukční operaci, obr. c) krajina bradová, podbradová a krční, obr. d) jazyk a spodina dutiny ústní, obr. e) krajina tváře a parotideomaseterická , obr. f) krajina krční.

## 4.5. Výsledky LITT

V této studii bylo sledováno celkem 32 pacientů s pokročilým nádorovým onemocněním hlavy a krku, u kterých byly vyčerpány veškeré ostatní možné léčebné možnosti. Hned úvodem je velmi podstatné si připomenout, že naším cílem nebylo zhodnotit vyléčení, resp. nevyléčení pacienta, ale naopak, cílem bylo zjistit klinický efekt a zejména byl důraz kladen na objektivní vnímání přínosu laserové intersticiální hypertermie pro pacienta samotného.

Spolupráce s pacienty v období plánování léčby, v průběhu samotné laserové intersticiální hypertermie i v pooperačním období byla velmi dobrá i s ohledem na to, co již pacienti museli podstoupit v průběhu předešlé onkologické terapie (resekční výkony, radioterapie, chemoterapie) s veškerými negativními důsledky na jejich stávající zbytek života.

Průběh výkonu v lokální anestézii:

V pooperačním průběhu jsme nezaznamenali rozdíly mezi pacienty, kteří podstoupili laserovou intersticiální hypertermii v lokální nebo celkové anestézii. Někteří pacienti hůře snášeli pouze aplikace lokálního anestetika, jednalo se o lokalizace LITT zejména v oblasti očníce a tváře. Samotný výkon provedený v lokální anestézii byl již pro pacienty bezbolestný. Teplo, které vznikalo v cílové oblasti nádorů během LITT, pacienty nějak zásadně neobtěžovalo. LITT nebylo nutné v průběhu operace nikdy přerušit a všichni pacienti zákrok dokončili bez jakýchkoliv obtíží.

Hodnocení bylo zaměřeno na dvě roviny zájmu:

- subjektivní změny v hodnocení 9 parametrů původně udávaných stížností pacienta,
- klinické zhodnocení léčebného efektu.

### 4.5.1. Subjektivní hodnocení parametrů stížností pacienta

Základem subjektivního hodnocení bylo zjistit změnu stížností pacienta v oblasti 9 parametrů před výkonem a po LITT (tj. krvácení z tumoru, obtíže při polykání, řeči, znetvoření jako estetické hledisko, tumorózní masa, bolest, zápach, psychické hledisko). Kontrolní pooperační stanovení těchto 9 parametrů jsme prováděli 2 týdny po laserové intersticiální hypertermii. Časový horizont hodnocení (tj. odstup 2 týdnů po LITT) jsme stanovili zcela záměrně, neboť jsme očekávali, že výsledek zjištěný v kratším termínu po operaci (např. 1 týden) by mohl být zkreslen pooperačním průběhem hojení, a výsledek by tak nebyl zcela validní a plně vypovídající o skutečné změně parametrů.

U všech pacientů (13/13) byly odstraněny krvácivé projevy. Většina pacientů (28/32) pozitivně zhodnotila zmenšení nádorové masy, 19/24 pacientů uvedlo zlepšení zápachu z rozpadajícího se nádoru, u 5/7 pacientů se zmírnila bolest. Zlepšení polykání bylo hlášeno u 14/20 pacientů, zlepšené dýchání udalo 10/16, zlepšení řeči 7/21. Zlepšení vzhledu (znetvoření) udalo jen 2/10 pacientů. Psychické hledisko bylo velmi pozitivní, neboť 29/32 pacientů udalo zlepšení psychiky po LITT (viz tab. 4.14.).



Tab. 4.14. Výsledky hodnocení dle parametrů

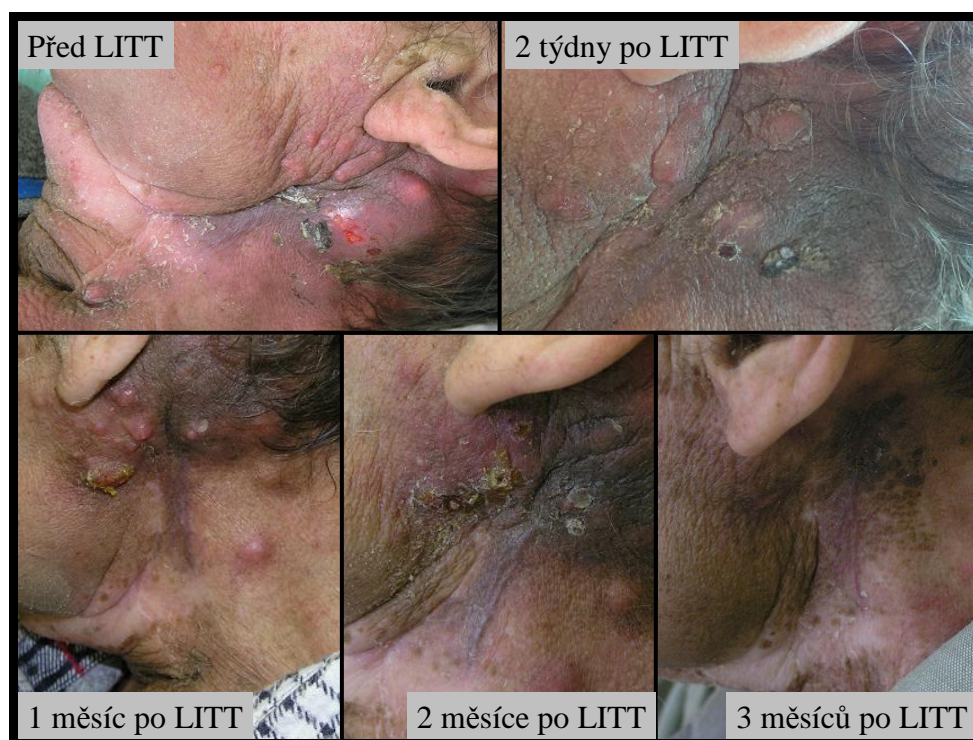
Parametr	Počet	Stav	Počet	%
<b>Krvácení</b>	13	Zlepšení	13/13	100
		Bez efektu	0/13	0
		Zhoršení	0/13	0
<b>Dýchání</b>	16	Zlepšení	10/16	62,5
		Bez efektu	6/16	37,5
		Zhoršení	0/16	0
<b>Polykání</b>	20	Zlepšení	14/20	70,0
		Bez efektu	4/20	20,0
		Zhoršení	2/20	10,0
<b>Řeč</b>	21	Zlepšení	7/21	33,3
		Bez efektu	12/21	57,2
		Zhoršení	2/21	9,5
<b>Znetvoření</b>	10	Zlepšení	2/10	20,0
		Bez efektu	7/10	70,0
		Zhoršení	1/10	10,0
<b>Tumorózní masa</b>	32	Zlepšení	28/32	87,5
		Bez efektu	3/32	9,4
		Zhoršení	1/32	3,1
<b>Bolest</b>	7	Zlepšení	5/7	71,4
		Bez efektu	2/7	28,6
		Zhoršení	0/7	0
<b>Zápach</b>	24	Zlepšení	19/24	79,2
		Bez efektu	4/24	16,7
		Zhoršení	1/24	3,1
<b>Psychické hledisko</b>	32	Zlepšení	29/32	90,6
		Bez efektu	3/32	9,4
		Zhoršení	0/32	9

#### 4.5.2. Klinické hodnocení léčebného efektu

Klinické hodnocení jsme prováděli 4 týdny po laserové intersticiální hypertermii. Vzhledem k tomu, že 4 pacienti (4 ženy) zemřeli před uplynutím stanoveného termínu, bylo hodnocení provedeno ze souboru přeživších pacientů, tj. celkem 28. Klinické zhodnocení léčebného efektu se opíralo o makroskopické vyšetření v cílové tkáni laserové intervence (LITT). Bylo čistě orientační, neboť přesné stanovení odpovědi na léčbu by bylo možné hodnotit pouze po vyšetření některou ze zobrazovacích metod (CT či MRI). Pacienta v pokročilém stádiu nádorového onemocnění jsme tímto vyšetřením již nechtěli zatěžovat, protože jsme ani neočekávali vyléčení, ale jednalo se především o zlepšení kvality života. Téměř u 90 % pacientů byla zaznamenána alespoň minimální odezva na terapii (obr. 4.8.). U žádného pacienta nedošlo k výrazné progresi onemocnění ve stanoveném termínu (tj. 1 měsíc po LITT). U 2 pacientů došlo k zmenšení nádoru minimálně o 50 %. Klinické hodnocení léčebného efektu ukazuje podrobněji tab. 4.15.

Tab. 4.15. Klinickém hodnocení léčebného efektu

Léčebný efekt	Počet	%
Bez efektu, nebo progrese	3	10,7
Efekt < 25 %	11	39,3
Efekt < 50 %	12	42,9
Efekt > 50 %	2	7,1



Obr. 4.8. Obrázek zobrazuje pacienta s progresí nádorového onemocnění do oblasti retroaurikulární, podčelistní a krční krajiny (stav před laserovou intersticiální hypertermií, 2 týdny po výkonu, 2 a 3 měsíce po výkonu).

### 4.5.3. Komplikace

V průběhu výkonu nastaly pouze 2 komplikace, vždy se jednalo o krvácení, které bylo během operačního zákroku zastaveno. Lokalizací terapie se jednalo o LITT v krční krajině.

V pooperačním období po laserové intersticiální hypertermii byly pozorovány 2 komplikace, v obou případech se jednalo o otok v podjazykové krajině. Ani v jedné z těchto komplikací nebyla nutná žádná chirurgická intervence (např. tracheotomie), ale stav byl kompenzován podáním kortikoidů.

Pacienti obecně výkon snášeli velmi dobře. Bolestivost se nikterak nezvýšila s porovnáním s obdobím před výkonem. Pokud bolest byla po LITT přítomna, byla vždy charakteru minimálního (max. mírného) stupně, nicméně byla s úspěchem velmi dobře kontrolována užitím běžných analgetik a nebylo nutné nějakým zásadním způsobem měnit režim již zavedené analgetické terapie onkologických pacientů.

#### 4.5.4. Úmrtí

V průběhu laserové intersticiální hypertermie jsme nezaznamenali žádné úmrtí, které by přímo souviselo s vlastním prováděným výkonem. Za celou dobu studie z celkového souboru 32 sledovaných pacientů zemřelo 21 (13 mužů a 8 žen). Do 6 měsíců po operaci jsme zaznamenali celkem 15 úmrtí (10 mužů a 5 žen). Během prvních dvou měsíců zemřelo celkem 6 pacientů (2 muži a 4 ženy), z toho 4 pacienti první měsíc po operaci (4 ženy), blíže viz tab. 4.16., 4.17., 4.18. Přežití pacientů po LITT (v %) ukazuje graf 4.1. a 4.2. Příčiny úmrtí onkologických pacientů v pokročilém stadiu nádorového onemocnění byly ve většině případů bronchopneumonie následované srdeční zástavou.

Tab. 4.16. Úmrtí onkologických pacientů

Úmrtí celkově	Pohlaví	Počet	%
21	Muži	13	61,9
	Ženy	8	38,1

Tab. 4.17. Úmrtí pacientů do 1, 2 a 6 měsíců po LITT

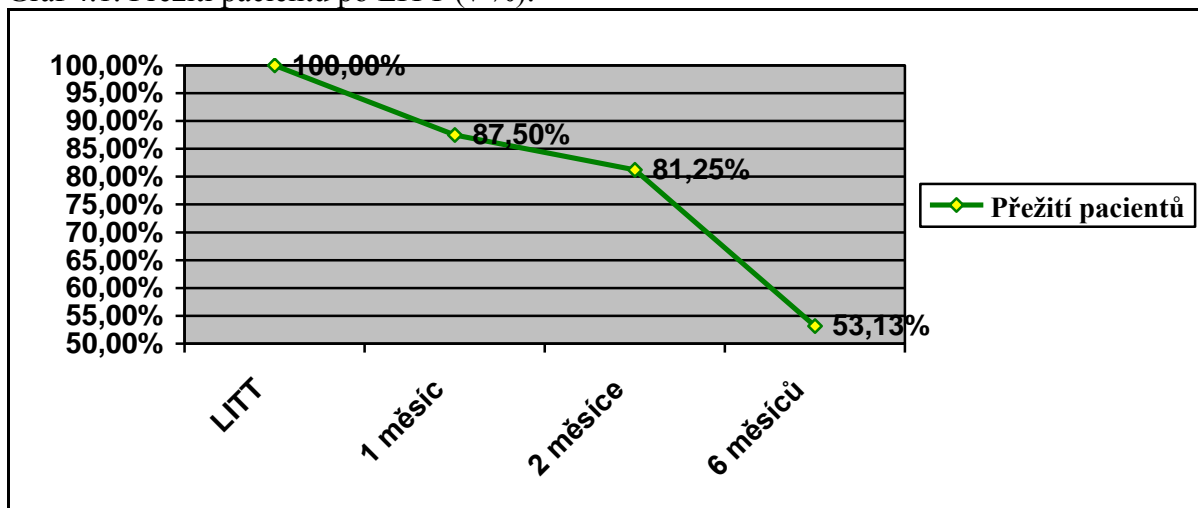
Úmrtí do 1 měsíce po LITT			
Počet	Pohlaví	Počet	%
4	Muži	0	0
	Ženy	4	100,0
Úmrtí do 2 měsíců po LITT			
Počet	Pohlaví	Počet	%
6	Muži	2	33,3
	Ženy	4	66,7
Úmrtí do 6 měsíců po LITT			
Počet	Pohlaví	Počet	%
15	Muži	10	66,7
	Ženy	5	33,3

Tab. 4.18. Úmrtí s časovým odstupem po LITT (% z celkového sledovaného souboru pacientů)

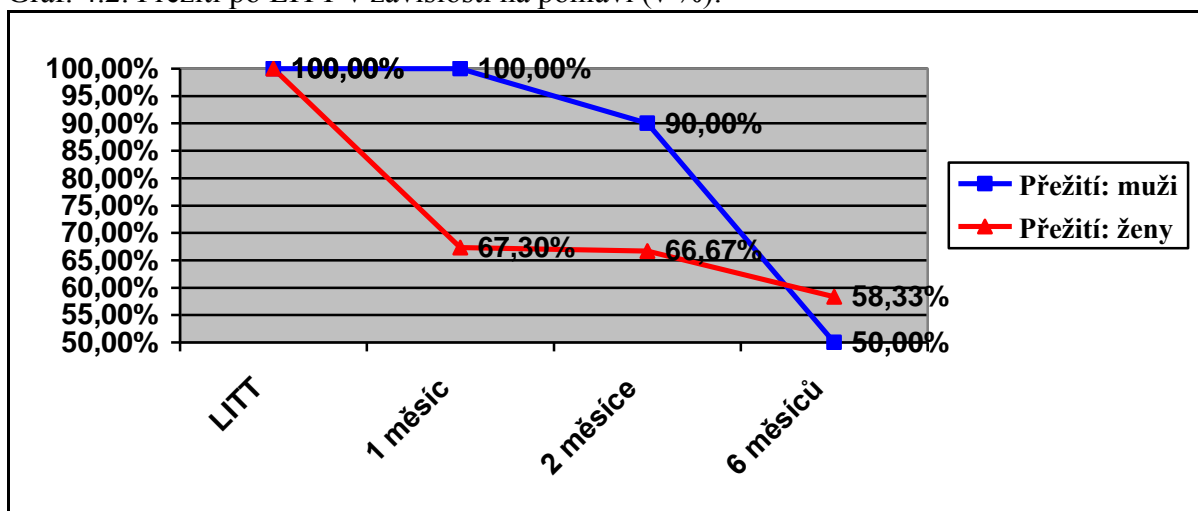
	Počet úmrtí	M	Ž	% z 32 pacientů
1 měsíc po LITT	4	0	4	12,5
2 měsíce po LITT	6	2	4	18,8
6 měsíců po LITT	15	10	5	46,8
Celkově	21	13	8	65,6



Graf 4.1. Přežití pacientů po LITT (v %):



Graf. 4.2. Přežití po LITT v závislosti na pohlaví (v %):



#### 4.5.5. Statistické zhodnocení LITT podle 9 sledovaných parametrů

Testy  $\chi^2$  homogenity v tabulce 4.19. (statistické zhodnocení laserové intersticiální hypertermie podle 9 sledovaných parametrů) potvrdily, že diferenciace ve struktuře odpovědí pacientů (v rámci kategorií: zlepšení, bez efektu, zhoršení) podle 9 parametrů (krvácení, dýchání, polykání, řeč, znetvoření, tumorózní masa, bolest, zápach, psychické hledisko) je vysoce statisticky významná (pro souhrnný test:  $\chi^2(16) = 49,390$ ;  $p < 0,001$ ). Detailnější analýza (na bázi adjustovaných reziduí a parciálně i porovnáním struktury všech dvojic parametrů) umožňuje dále uvedené závěry (v rámci jednotlivých kategorií hodnocení):

- 1) zlepšení má statisticky nejvýznamněji vyšší zastoupení vůči ostatním parametrům z hlediska psychického (90,6 %;  $p < 0,01$  pro 29 odpovědí) a na úrovni hodnocení pro krvácení (100,0 %;  $p < 0,05$  pro 13 odpovědí) a tumorózní masu (87,5 %;  $p < 0,05$  pro 28 odpovědí);
- 2) hodnocení bez efektu bylo naopak statisticky nejvýznamněji procentuálně zastoupeno z pohledu řeči (57,1 %;  $p < 0,001$  pro 12) a znetvoření (70,0 %;  $p < 0,001$  pro 7

pacientů); vyšší procenta u těchto parametrů jsou samozřejmě kompenzována nižšími (rovněž statisticky významnými) podíly na úrovni klasifikace zlepšení (33,3 % pro řeč; 20,0 % pro znetvoření);

- 3) struktura odpovědí v rámci kategorie zhoršení se statisticky významně nediferencuje (hodnocení na této hladině tedy nesouvisí s klasifikací podle parametrů);
- 4) některé další parciální anomálie můžeme shledat jako statisticky významné ještě při  $\chi^2$  „párovém srovnání dvojic parametrů“ (kupř. 79,2 % zlepšení zápachu, resp. 70,0 % zlepšení polykání vůči nižším procentům odpovědí vztaženým k řeči nebo znetvoření anebo analogicky 71,4 % zlepšení bolesti, resp. 62,5 % zlepšení dýchání vůči již zmíněným 100,0 % zlepšení u krvácení atd.) – tyto výsledky již však nelze považovat za plně zobecnitelné (jako v bodech ad 1-3).

Tab. 4.19. Statistické zhodnocení laserové intersticiální hypertermie podle 9 sledovaných parametrů (krvácení, dýchání, polykání, řeč, znetvoření, tumorózní masa, bolest, zápach, psychologické hledisko).

					13	16	20	21	10	32	7	24	32
				Zlepšení	100,0%	62,5%	70,0%	33,3%	20,0%	87,5%	71,4%	79,2%	90,6%
				Bez efektu	0,0%	37,5%	20,0%	57,2%	70,0%	9,4%	28,6%	16,7%	9,4%
				Zhoršení	0,0%	0,0%	10,0%	9,5%	10,0%	3,1%	0,0%	3,1%	9,0%
	Zlepšení	Bez efektu	Zhoršení		1 Krvácení	2 Dýchání	3 Polykání	4 Řeč	5 Znetvoření	6 Tumorózní masa	7 Bolest	8 Zápach	9 Psychické hledisko
13	100,0%	0,0%	0,0%	1 Krvácení		0,013	0,092	0,001	0,000	0,410	0,042	0,209	0,253
16	62,5%	37,5%	0,0%	2 Dýchání	0,013		0,265	0,140	0,070	0,054	0,679	0,259	0,019
20	70,0%	20,0%	10,0%	3 Polykání	0,092	0,265		0,043	0,022	0,285	0,646	0,693	0,088
21	33,3%	57,2%	9,5%	4 Řeč	0,001	0,140	0,043		0,741	0,000	0,192	0,008	0,000
10	20,0%	70,0%	10,0%	5 Znetvoření	0,000	0,070	0,022	0,741		0,000	0,096	0,005	0,000
32	87,5%	9,4%	3,1%	6 Tumorózní masa	0,410	0,054	0,285	0,000	0,000		0,360	0,691	0,601
7	71,4%	28,6%	0,0%	7 Bolest	0,042	0,679	0,646	0,192	0,096	0,360		0,694	0,169
24	79,2%	16,7%	3,1%	8 Zápach	0,209	0,259	0,693	0,008	0,005	0,691	0,694		0,345
32	90,6%	9,4%	9,0%	9 Psychické hledisko	0,253	0,019	0,088	0,000	0,000	0,601	0,169	0,345	

## 4.6. Diskuse LITT

Laserová intersticiální hypertermie není uznávána jako primární léčebná modalita u nádorů hlavy a krku. Hlavní úlohu zde sehrává zejména chirurgický zákrok, není-li možný, pak přichází v úvahu chemoterapie, radioterapie nebo kombinace obou těchto metod. LITT je indikována v paliativní terapii onkologického onemocnění u symptomatických pacientů (bolest, dysfagie apod.) [60]. Za velmi podstatnou výhodu lze pokládat, že laserovou intersticiální hypertermii lze kombinovat jak s chemoterapií, tak i radioterapií [46].

Cílem laserem indukované intersticiální termoterapie v onkologii je lokální kontrola nádorového růstu se šetřením okolní zdravé tkáně. Účinnost léčby se zvyšuje za použití zobrazovacích metod umožňujících kontrolu v průběhu léčebného postupu [81]. V naší studii se nám osvědčila kontrola vedení laserové intersticiální hypertermie pomocí ultrazvuku. Z jednotlivých zobrazovacích technik, které jsou při LITT využívány (CT, MRU, ultrazvuk), je sonografie i nejlépe finančně dostupná a dobře přenosná. Při využití Dopplerova zobrazení jsme měli navíc i v těsném kontaktu s cévami dobrý přehled v intervenované cílové oblasti nádorové tkáně.

Významným problémem laserové intersticiální hypertermie je přežití nádorových buněk na okraji léze, což vede po léčbě k dalšímu růstu nádoru. Další vývoj zobrazovacích technik, stejně jako i zaměření se na přeživší nádorové buňky, jsou nezbytné pro zlepšení výsledků LITT [66]. Ačkoliv cílem každé léčebné intervence je vyléčení daného onemocnění, cílem paliativní terapie jako takové není vyléčení choroby (nádoru), ale zlepšení stávajícího života, zlepšení přítomných symptomů, které onkologickému pacientovi v pokročilém stádiu nádorového onemocnění nejvíce ztrpčují a negativně ovlivňují jeho zbývající část života. Tento záměr byl i hlavním cílem této studie a našeho sledování. Hned od počátku byli pacienti podrobně seznamováni s charakterem a očekávaným výsledkem aplikace laserové intersticiální hypertermie, takže ani neočekávali, že LITT bude nějakým zásadním způsobem ovlivňovat základní onemocnění nebo jejich prognózu.

Cílem našeho snažení nebylo porovnat výsledky efektivity léčby laserovou intersticiální hypertermií u nádorů v oblasti hlavy a krku s jinými studiemi podobného zaměření. Naše studie byla svým zaměřením jedinečná (v odborné literatuře nebyla podobná studie dosud publikována) jak charakterem souboru pacientů (naše indikační spektrum týkající se lokalit aplikace LITT bylo velmi rozsáhlé a pestré), použitím diodového laseru při LITT, tak hodnocením námi zvolených 9 parametrů. Nenašli jsme dostupnou odbornou literaturu, která by byla alespoň svým zaměřením podobná naší studii. Takže nebylo možné provést adekvátní srovnání.

K našemu hodnocení se nejvíce blíží klasifikace University of Washington Quality of Life (UW-QOL) modifikovaná pro malignity hlavy a krku. Zde se ovšem hodnotí 12 kategorií: bolest, vzhled, aktivita pacienta, možnost odpočinku, polykání, žvýkání, řeč, pohyblivost ramen, chuť, salivace, nálada, strach. Hodnocení probíhá u všech pacientů, a to formou dotazníku (0 - žádná kvalita až po 100 - plná kvalita). Toto hodnocení lze závěrem převést až na procenta, takže je možné dostat výsledek, který je dobře komparabilní s ostatními podobně zaměřenými studiemi. V naší studii jsme ovšem vytvořili a použili zcela vlastní systém hodnocení, výrazně zjednodušený. Sledovali jsme pouze 9 parametrů (tj. krvácení, dýchání, polykání, řeč, znetvoření, tumorózní masa, bolest, zápach a psychické hledisko), které sice byly v některých bodech podobné jako UW-QOL, ale v některých se podstatně lišily (jako zcela zásadní můžeme považovat krvácení, dýchání, zápach a tumorózní masu). Výrazně jsme zjednodušili i získávání dat od pacientů, tj. pacienti pouze udali přítomnost či nepřítomnost parametru před LITT. V případě přítomnosti daného parametru byla po laserové intervenci zaznamenána již jen změna tohoto parametru (tj. zlepšení, zhoršení nebo beze změny), což výrazně zjednodušilo i výsledné hodnocení. Byli jsme tedy schopni zhodnotit kvalitativní charakter změny daného parametru, nikoliv však udat kvantitativní změnu (tj. vyjádřit hodnotu změny v procentech). Vzhledem k tomuto jedinečnému, ale poměrně jednoduchému a v klinice dobře aplikovatelnému systému hodnocení jsme nemohli porovnat výsledky s jinými studiemi.

Naším hlavním cílem zájmu bylo tedy sledovat oněch 9 parametrů (hlavních stížností onkologických pacientů) a zejména jejich změny po proběhlé laserové intersticiální hypertermii. Zde nám výsledky studie potvrdily naši hypotézu a ve většině parametrů došlo k výraznému zlepšení a tím i k pozitivnímu ovlivnění života onkologického pacienta.

Kromě zmenšení nádorové masy (blíže viz text níže) bylo také pozorováno i velké zlepšení u psychického stavu pacienta, kde signálem a výrazným podnětem k zlepšení byla již samotná indikace LITT. Pacient tím získal další zájem o sebe sama, pozitivní impuls v myšlení, nebyl tak ponechán sám na pospas svému osudu a získal opět alespoň pocit, že okolí k jeho nevalné prognóze není zcela lhostejné.

Podobná situace nastala v hodnocení zápachu, který onkologického pacienta velmi obtěžoval a často bohužel vyústil až ke společenské izolaci a stranění se svého okolí. Po LITT došlo ke zlepšení tohoto parametru, sice vlastní zdravotní stav nejspíše neznamenal plný návrat do společenského života, ale určitě došlo k výraznému posunu a pacient se nemusel cítit odtržený na okraji společnosti.

U všech pacientů (13 z 13) došlo k zmírnění nebo úplnému odstranění krvácivých projevů, což opět onkologický pacient velmi citlivě vnímal jako výrazné zlepšení stavu, neboť každé riziko krvácení s komplikacemi, které jsou s ním spojeny, člověk snáší všeobecně velmi špatně a mnohdy vede až k akutní hospitalizaci. Dýchání se zlepšilo u 10 z 16 pacientů a nutno dodat, že pocit dechové tísně pacienty zneklidňuje a je vždy velmi negativně vnímán. U dalších sledovaných parametrů jako byla řeč a polykání jsme po LITT zaznamenali rovněž pozitivní ovlivnění. Hodnocení estetického vzhledu („znetvoření“) bylo spíše neutrální, případně pacienti udávali mírné zlepšení, což bylo trochu překvapující, neboť jsme víceméně očekávali spíše negativní přístup.

Výrazné ovlivnění bolesti jsme v rámci naší studie neočekávali. U onkologických pacientů, zvláště pak u pacientů v pokročilém stádiu onemocnění, je primární snahou dostatečně kompenzovat a medikamentózně ovlivnit bolest na co nejmenší míru. Podstatné zjištění spočívalo v tom, že jsme nezaznamenali žádné zhoršené vnímání bolesti po provedení LITT.

Dalším sledovaným parametrem byla velikost (čili masa nádoru). Plánovat úplné zničení nádoru by bylo velmi nerealistické a scestné, ale i tak jsme vždy usilovali o co maximální zmenšení nádorové masy. Je nutné brát stále v potaz, že u pacientů v naší studii se jednalo o inoperabilní nádory hlavy a krku, u kterých byly vyčerpány veškeré ostatní možné léčebné možnosti (radioterapie, chemoterapie) a byli indikováni k symptomatické terapii. V rámci hodnocení klinického léčebného efektu jsme dospěli k úspěšným výsledkům, u 90 % pacientů jsme zaznamenali alespoň minimální odezvu na terapii, u 2 pacientů došlo k zmenšení nádoru dokonce značně přesahující 50 %. Tyto výsledky zjevně ukazují, že laserová intersticiální terapie může výrazně zmenšit velikost nádoru.

## **4.7. Závěr LITT**

Laserová intersticiální hypertermie (LITT) zlepšuje kvalitu života u onkologických pacientů v pokročilém stádiu nádorového onemocnění hlavy a krku. Je to relativně levná a bezpečná metoda. V průběhu naší studie jsme po LITT nezaznamenali žádné zásadní

komplikace, které by negativně ovlivnily samotný průběh terapie nebo následné hojení. Laserová intersticiální hypertermie byla pacienty velmi dobře snášena s pozitivním hodnocením ve všech sledovaných parametrech, proto můžeme tuto metodu považovat pro pacienty, u nichž byla indikována, za přínosnou. Pro bezpečné vedení LITT je ovšem nezbytně nutné používat některou ze zobrazovacích technik (minimálně ultrazvuk, lépe MRI) dle možností jednotlivých pracovišť.

## 5. Fotodynamická terapie („ČÁST C“)

### 5.1. Fotodynamická terapie (PDT): obecné aspekty

#### 5.1.1. Úvod a definice PDT

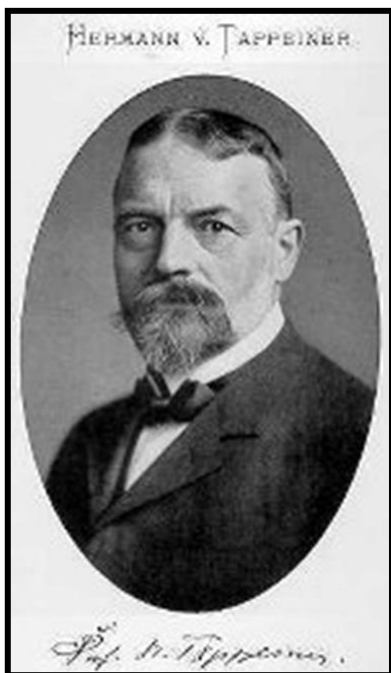
Fotodynamická terapie (PDT) je minimálně invazivní léčebná metoda, která je založena na interakci fotosenzibilizátoru ve tkáni se světlem [82]. Fotodynamická terapie zahrnuje použití fotochemické reakce zprostředkované interakcí fotosenzibilizujícího agens, světla a kyslíku pro terapii mnoha typů nádorových i nenádorových onemocnění [83]. Během PDT je fotosenzibilizující agens (fotosenzibilizátor) zakomponovaný v cílové tkáni aktivovaný specifickou vlnovou délkou světla nebo laseru za účelem produkce silných oxidačních činidel, jmenovitě volných radikálů pro „reakce typu I“ a singletního kyslíku pro „reakce typu II“. Singletní kyslík přímo způsobuje buněčnou smrt, uzavření (poškození) cév a zprostředkovává poškození díky uvolnění zánětlivých a imunitních mediátorů [84].

#### 5.1.2. Historie PDT

Historie fotodynamické terapie v medicíně sahá do začátku 20. století. První zprávy pocházejí z roku 1900, kdy Raab popsal úhyn buněk paramécie (*Paramecium caudatum*, Trepka velká) po 2 hodinách expozice fotosenzibilizátoru (akridinová oranž) a světla. Von Tappeiner (viz obr. 5.1.) a Jodblauer v roce 1904 popsali jako první termín fotodynamický efekt. V roce 1905 Von Tappeiner a Jesionek popsali pokus s 5% eosinem. Použili jej jako fotosenzibilizátor a s umělým světlem úspěšně léčili u lidí nemelanomové nádory kůže, lupus vulgaris, condylomata lata. Předpokládali, že eosin se inkorporuje do buněk a může po expozici světla vyvolat cytotoxické reakce. Tato studie byla poprvé představena v roce 1905 a stala se prototypem pro budoucí studie zaměřené na fotodynamickou terapii [85].

V roce 1911 Hausman a spol. popsali svoje výsledky s použitím hematoporfyrinu. Ukázali, že světlem aktivovaný hematoporfyrin může fotosenzibilizovat vepře a myš [86]. Mezer-Betz v roce 1915 demonstroval fototoxicitu sám na sobě, když si sám injekčně vpravil hematopofyrin a popsal po expozici světla otoky a bolest. V roce 1942 Auler a spol. popsali, že hematoporfyrin se více koncentruje v kožních nádorech než v okolní tkáni, popsali fluorescenci a dále, že po expozici světla nádory nekrotizují [85]. V roce 1960 Lipson a spol. popsali derivát hematoporfyrinu (využit k selektivní destrukci prsních nádorů) [87, 88]. Dougherty a spol. v roce 1978 prezentovali jako nový fotosenzibilizátor purifikovaný derivát hematoporfyrinu (HPD - hematoporphyrin purified derivate). Ukázali, že HPD může úspěšně léčit kožní nádory, kdy použili červené světlo jako primární světelný zdroj [89, 90].

Další zlom ve vývoji PDT nastal v roce 1990, kdy Kennedy a spol. představili první topický porfyrinový derivát - aminolevulová kyselina (ALA). ALA je aplikována na kůži a je absorbována přes stratum corneum a přeměněna v aktivní formu, Protoporfyrin IX, který je součástí přirozené syntézy hemu [91]. Následný rozvoj PDT byl spojen se zavedením nových fotosenzibilizátorů do praxe: Photofrin® v roce 1994 (schválen pro klinickou praxi při léčbě karcinomů plic), Levulan® v roce 1999 (schválen k léčbě aktinické keratózy) a Metvix® (methylester-aminolevulové kyseliny) v roce 2001 ve Švédsku (schválen k terapii aktinické keratózy a bazocelulárního karcinomu) [10].

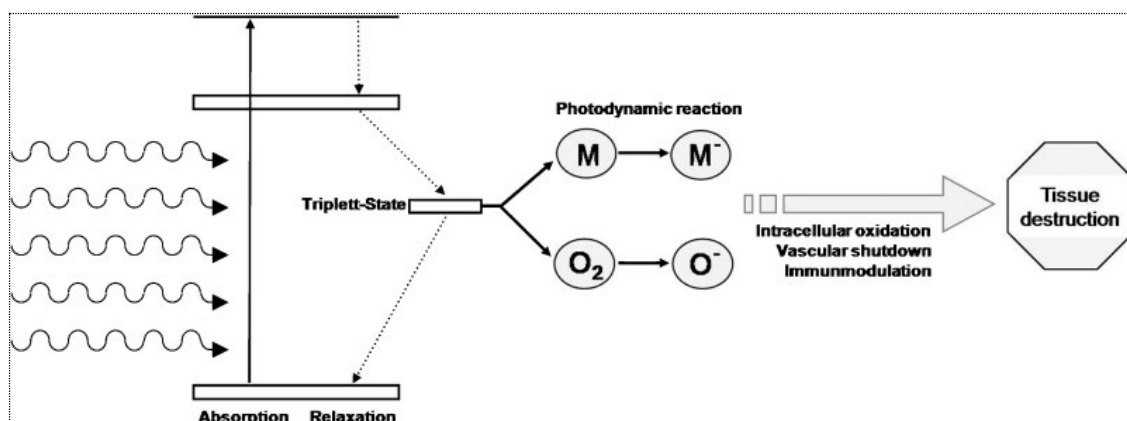


Obr. 5.1.: Von Tappeiner

### 5.1.3. Obecný princip PDT

Princip fotodynamické terapie je proces, ve kterém je podán fotosenzibilizující lék (lokálně či systémově), který je relativně selektivně nahromaděn nebo držen v nádorové tkáni. Poté je cílový tumor ozářen zdrojem laserového světla specifické vlnové délky, což vyvolá fotochemickou reakci, která poškozuje nádorové buňky, a vede tak k nádorové regresi [92]. V rámci působení laser (světlo) - tkáň se jedná o fotochemický mechanismus účinku, kdy dochází k absorpci světla bez primárního ohřevu této tkáně. Působení je založeno na chemických reakcích na makromolekulární úrovni (fotosenzibilizátor prochází řadou intramolekulárních chemických reakcí, které vedou k oxidaci různých buněčných komponent) [16]. Schématické znázornění mechanismu účinku fotodynamické terapie ukazuje obr. 5.2.

Fotosenzibilizátor, který je původně v neexcitovaném stavu, se po absorpci světla (fotonů) posouvá nejdříve do elektronicky excitovaného singletního stavu a pak přes mezistupeň do excitovaného tripletního stavu. Energie vybuzeného fotosenzibilizátoru může být přenášena tepelným rozpadem, emisí, fluorescencí nebo fosforescencí. Excitovaný tripletní stav může přenést atom vodíku nebo elektron biomolekulám (lipidy, proteiny, nukleové kyseliny atd.) a vytvářet radikály, které reagují s kyslíkem za tvorby reaktivních kyslíkových radikálů, jako superoxidový anion, hydroxylový radikál a peroxid vodíku (reakce I typu). Navíc tripletní stav může předat energii přímo molekule kyslíku za vzniku trikyslíku a dále vysoce reaktivního singletního kyslíku (reakce II typu). Výsledkem obou pochodů je oxidativní stres, který vede ke zničení buněk. Ačkoliv přesný mechanismus PDT není plně znám, je obecně akceptováno, že kyslíkové produkty II typu reakce jsou přímo zodpovědné za buněčnou smrt [93].



Obr. 5.2. Schématické znázornění mechanismu účinku fotodynamické terapie. Pokud fotosenzibilizující molekuly (např. mTHPC) excitují působením světla o určité vlnové délce, jejich vnější elektrony dosáhnou vyšší, nestabilní energie. V těchto speciálních molekulách projdou semi-stabilním, tzv. triplet-stavem, před návratem do stabilního základního stavu. V tomto stavu je možnost přenosu energie od fotosensitivní látky na kyslík ( $O_2$ ) nebo jiné molekuly, které jsou přeměněny (transformovány) ve vysoce reaktivní radikály. Prostřednictvím různých cest, jako intracelulární oxidace, dochází k buněčné nekróze nebo apoptóze, cévnímu uzavření a imuno-modulačním efektům, což nakonec vede k očekávané tkáňové destrukci.

(Převzato: Betz CS, Jäger HR, Brookes JAS, Richards R, Leunig A, Hopper C. *Interstitial Photodynamic Therapy for a Symptom-Targeted Treatment of Complex Vascular Malformations in the Head and Neck Region. Lasers Surg and Med* 2007;39:571-582.)

Reaktivní formy kyslíku mají různé cytotoxické účinky:

- Stáza nádorových cév, která vede k cévnímu kolapsu → přestup cévní tekutiny a krvinek. (Někteří autoři udávají, že cévní reakce jsou důležitější pro efekt PDT více, než se obecně očekává.)
- Uvolnění imunomodulátorů nebo cytokinů : interleukiny, prostaglandiny, eikosanoidy → zprostředkují cytotoxický efekt [94].

Účinnost fotodynamické terapie závisí na několika faktorech zahrnujících:

- typ a koncentraci fotosenzibilizátoru,
- světelnou dávku,
- dostupnost kyslíku,
- buněčnou lokalizaci [94, 95].

#### 5.1.4. Fotosenzibilizátory

Existuje velké množství fotosenzibilizátorů. Většina z nich jsou deriváty porfyrinů, ftalocyanin a chloriny [94]. Přehled schválených fotosenzibilizátorů ukazuje tabulka 5.1. Fotosenzibilizátor, v závislosti na typu, může být podáván intravenózně, vstřebáván (přijímán) orálně nebo aplikován lokálně. Fotosenzibilizátor se aktivuje pomocí specifické vlnové délky světla odpovídající absorpčním vlastnostem, které jsou jedinečné pro každý

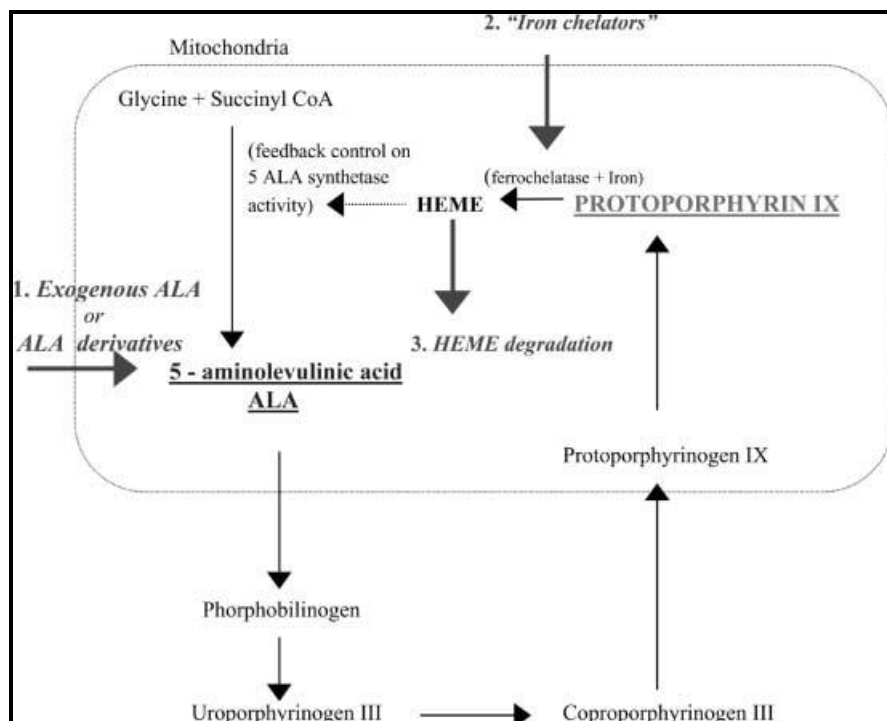


konkrétní fotosenzibilizátor. Po jeho aktivaci a prostřednictvím následných proběhnuvších cytotoxických mechanismů je výsledkem nekróza nádorové tkáně [96].

Tab. 5.1. Schválené fotosenzibilizátory pro terapii prekanceróz a nádorů

Fotosenzibilizátor	Chemicky	Obchodní značka	Indikace	Datum schválení a země
Derivát hematoporphyrinu (HDP) Porfimer sodium	Porfyrin	Photofrin <sup>®</sup> Photosan <sup>®</sup> Photogem <sup>®</sup> Photohem <sup>®</sup>	Barrettův jícn, dysplazie a nádory děložního čípku, ca plic, ca žaludku, jícnové adenokarcinomy, nádory močového měchýře	1994 v Kanadě, nyní ve více než 125 zemí (EU, Kanada, Japonsko, Indie, Rusko atd.)
Tetra(m-hydroxyfenyl)chlorin, mTHPC, Temoporfin	Chlorin	Foscan <sup>®</sup>	Paliativní terapie nádorů hlavy a krku	2001 v EU
Aminolevulová kyselina (ALA)	Porfyrin	Levulan <sup>®</sup>	Aktinická keratóza	2000 v USA
Methyl-ester aminolevulové kyseliny (MAL)	Porfyrin	Metvix <sup>®</sup>	Aktinická keratóza, bazocelulární karcinom	2001 v EU

(Převzato: Juarranz A, Jaén P, Sanz-Rodríguez F, Cuevas J, González S. Photodynamic therapy of cancer. Basic principles and applications. Clin Trans Oncol 2008;10:148154.)



Obr. 5.3. Schéma dráhy biosyntézy buněčného hemu 3 možnými mechanismy zvýšením koncentrace Protoporphyrinu IX.

(Převzato: Jichlinski P, Leisinger HJ. Photodynamic therapy in superficial bladder cancer: past, present and future. Urol Res 2001;29:396-405.)

Rozeznáváme dvě generace fotosenzibilizátorů:

Porfimer sodium (Photofrin, 1. generace):

- Indikační spektrum léčby zahrnuje Barrettův jícen, krční nádory, nádory žaludku, jícnu, endobronchiální a papilární karcinom močového měchýře.
- Jeho nevýhodou je špatná nádorová selektivita, prodloužená kožní fotosenzitivita.
- Maximální absorpce nastává při 630 nm, dávka 0,8-2,5 mg/kg. Inkubace je 24-72 hodin; osvětlení: 100-200 J/cm<sup>2</sup> (100 mW/cm<sup>2</sup>).

5-aminolevulová kyselina (ALA)

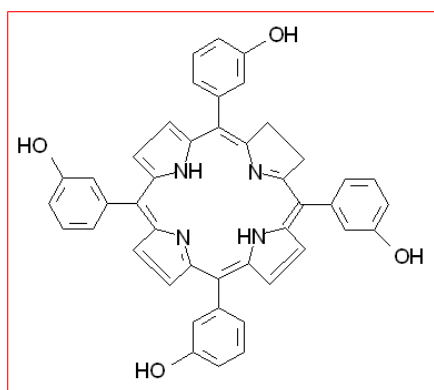
- Jedná se o přírodní prekurzor hemu.
- Terapeutické využití je při léčbě bazocelulárních karcinomů (BCC), aktinických keratóz, ústní dysplazie.
- Systémové podání ALA překonává zpětnou vazbu inhibicí ALA-syntetázy vedoucí k nadprodukci a kumulaci porfyrinů (prekurzor hemu), zejména Protoporfyriu IX (PPIX). Protoporfyriu IX je hlavní fotoaktivní substancí vytvořenou následující senzibilizační aminolevulové kyseliny (viz obr. 5.3.).
- ALA: absorpce je při vlnové délce 635 nm.
- Její hlavní výhodou je, že po systémovém podání trvá kožní fotoselektivita pouze 1-2 dny.
- Bylo prokázáno, že se více hromadí v epitelu než ve svalu pod ním.
- Lék může být podán ve formě 20% pasty nebo systémově (orální dávka 60 mg/kg, nebo i.v. 30 mg/kg). Inkubace je 3-6 hodin; osvětlení 100 J/cm<sup>2</sup> (100-150 mW/cm<sup>2</sup>).

Methyl-ester kys. aminolevulové (MAL)

- Terapeutické využití je při léčbě BCC a aktinických keratóz.
- Výhodou je vyšší nádorová specifita než u aminolevulové kyseliny (ALA).
- Charakteristická je vyšší metabolická transformace na PPIX.

Tetra(m-hydroxyphenyl)chlorin (mTHPC, Foscan, 2. generace)

- Jedná se o silnější fotosenzibilizátor pro řízení nádorů (ve srovnání s Photofrinem a ALA).
- Je využíván v terapii pokročilých stádií karcinomů hlavy a krku.
- Maximální absorpce je při vlnové délce 652 nm, dávka 0,05-0,15 mg/kg; inkubační doba je 96 hodin; osvětlení 10-20 J/cm<sup>2</sup> (100 mW/cm<sup>2</sup>). Chemická struktura viz obr. 5.4.



Obr. 5.4. Chemická struktura mTHPC (Foscan<sup>®</sup>)

(Převzato: **Lorenz KJ, Maier H. Photodynamic therapy with meta-tetrahydroxyphenylchlorin (Foscan<sup>®</sup>) in the management of squamous cell carcinoma of the head and neck: experience with 35 patients. Eur Arc Otorhinolaryngolog 2009;266:1937-1944.**)

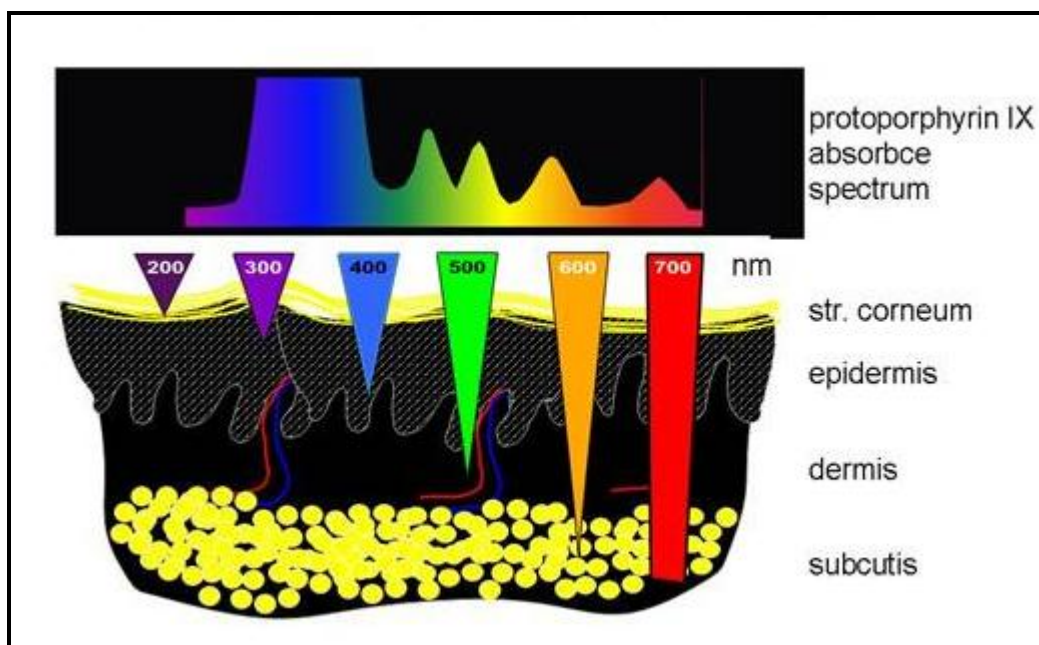
Třetí generace:

- Fotosenzibilizátory: mono-L-aspartyl chlorin e6, benzoporphyrin deriváty, lutecium texaphyrin
- Probíhají klinické studie, jejichž první výsledky ukazují lepší nádorovou specifitu a kratší generalizovanou fotosenzitivitu [94, 95, 97, 98, 99].

### 5.1.5. Zdroje světla sloužící k aktivace fotosenzibilizátoru

Pro aktivaci fotosenzibilizátoru ve fotodynamické terapii jsou vhodné právě takové zdroje světla, které produkují vlnovou délku, která má u daného použitého fotosenzibilizátoru největší absorpci. Dalším důležitým faktorem, který rozhoduje o efektivnosti terapie, je hloubka průniku tohoto světla do tkáně (viz obr. 5.5.). V prvních experimentech stačilo pouhé vystavení slunečním paprskům, dnes se využívají umělé zdroje světla:

- širokospektré zářiče,
- xenonové výbojky s modrými filtry,
- červené diodové systémy (o vlnové délce kolem 630 nm),
- pulzní intenzivní světlo,
- lasery [10].



Obr. 5.5. Penetrace světla do tkáně

(Převzato: Šmucler, R. *Terapeutické využití laserů v orofaciální onkologii*. Praha 2009. *Habilitační práce*.)

### 5.1.6. Klinické aplikace - využití

Fotodynamická terapie (PDT) je schválena FDA (Food and Drug Administration) jako minimálně invazivní léčebná metoda, která využívá světlo v přítomnosti kyslíku k aktivaci

fotosenzibilizující látky, která je selektivně soustředěna v abnormálních nebo neoplastických buňkách s následkem buněčné smrti. V současné době je PDT schválena pro klinické použití v USA, Evropské unii, Kanadě, Rusku a Japonsku.

V USA dal Americký úřad pro potraviny a léčiva (FDA) povolení k použití PDT při:

- Léčbě Barrettova jícnu, obstrukci jícnu karcinomem, časných a obstrukčních tracheobronchiálních karcinomů pomocí fotosenzibilizátoru Photofrin®.
- Aktinické keratóze pomocí fotosenzibilizátoru Levulan® (aminolevulová kyselina).
- Makulární degeneraci pomocí fotosenzibilizátoru BPD.

V EU výše zmíněné indikace byly také schváleny a přidány indikace:

- Časně nádory hlavy a krku pomocí fotosenzibilizátoru Foscan®.
- BCC a SCC kůže pomocí fotosenzibilizátoru Metvix® [100].

Až dosud byla chirurgická excize základní metodou léčby nemelanomových kožních nádorů. U pacientů s velkými a mnohočetnými nádory je po operaci mnohdy obtížné získat dobrý kosmetický efekt. Proto se hledaly nové terapeutické možnosti, které by se zachováním výsledného léčebného efekt zlepšily kosmetický výsledek.

Fotodynamická terapie je relativně novou léčebnou metodou (efektivní, dobře snášená, účinná, s uspokojivým funkčním a kosmetickým výsledkem) pro léčbu vybraných nádorů a ne-maligních onemocnění. Při správném použití je PDT schopna způsobit selektivní zničení nádoru se zachováním okolních tkání a vynikajícím kosmetickým efektem [92, 101]. Kožní nádory se zdají být ideální indikací pro PDT (dobrý přístup, osvětlení kůže přímo, přehlednost při následných kontrolách) [102].

Topická PDT má široké uplatnění v kožním lékařství. Nejčastější indikací k PDT je aktinická keratóza, bazocelulární karcinom, acne vulgaris, Bowenova choroba, další uplatnění nachází i při léčbě aktinické cheilitidy, virových infekcí kůže (např. bradavice, kondylomata), kožního T-buněčného lymfomu, kosmetických aplikací apod. [103]. Širší indikace 5-aminolevulové kyseliny při PDT v USA ukazuje tab. 5.2.

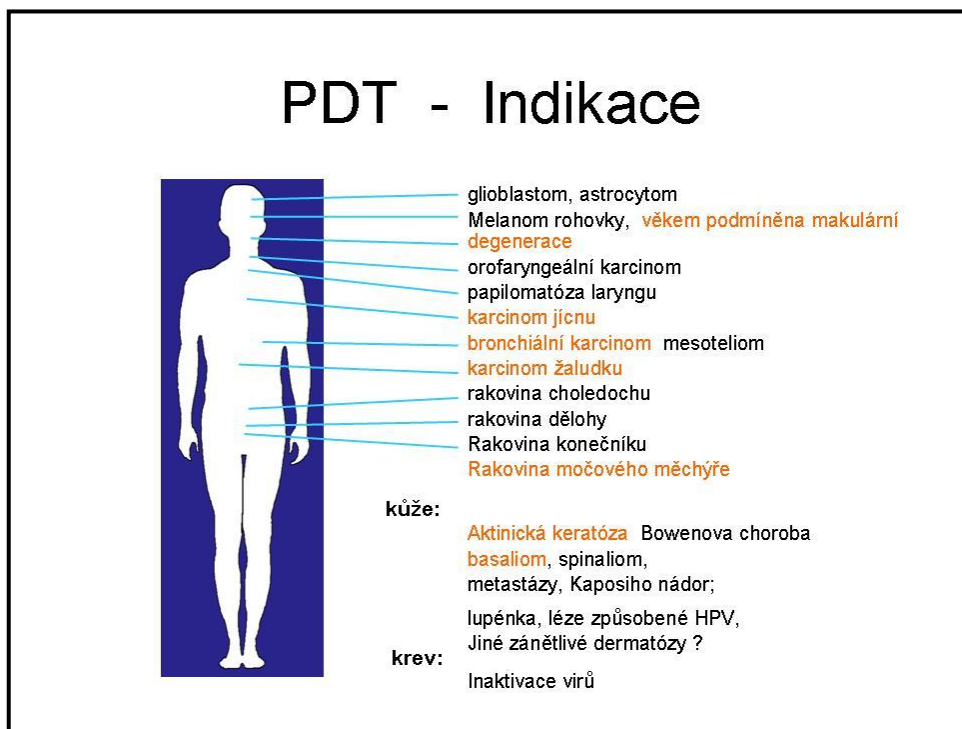
Tab. 5.2. Kožní indikace 5-aminolevulové kyseliny při PDT v USA

<b>Fotodynamická terapie v dermatologii</b>
Aktinická keratóza
Bowenova choroba
Povrchový bazocelulární karcinom
Povrchový spinocelulární karcinom
Kožní T-buněčný lymfom
Kaposiho sarkom
Maligní melanom
Aktinická cheilitida
Keratoakantom
Psoriasis vulgaris
HPV
Molluscus contagiosus
Alopecia areata
Hirsutismus
Acne vulgaris
Hydradenitis suppurativa

(Převzato: Gold MH (ed.) *Photodynamic Therapy in dermatology*. Springer 2011.)

Další klinické aplikace ( viz obr. 5.6.):

Systémová fotodynamická terapie je s dobrými výsledky používána při terapii rakoviny dýchacích cest, karcinomů hlavy a krku, jícnu, žaludku, tlustého střeva, slinivky břišní, karcinomu prostaty a močového měchýře. Některé další aplikace ukazují následující tabulky (tab. 5.3. a 5.4.) [94, 104, 105, 106, 107, 108].



Obr. 5.6. Klinické aplikace PDT

(Převzato: Šmucler, R. *Terapeutické využití laserů v orofaciální onkologii*. Praha 2009. *Habilitační práce*.)

Tab. 5.3. Klinické aplikace PDT

Cílová tkáň	Poznámky
Nádory jícny	Dg. tumorů jícnu stanoveny pozdě. PDT zlepšuje dysfagii
Barrettův jícen	Klinické fáze III. a IV. stupně
Ca močového měchýře, ca prostaty	Komplikace: dysurie, polyurie, smrštění močového měchýře
Endobronchiální nádory	Pokročilé nádory. Úleva od dušnosti, kašle, hemoptýzy.
Karcinomy hlavy a krku	Pokročilé nádory. Zlepšení symptomů související s nádory.
Cévní malformace	Umístění problematických hemangiomů - obličej, uši, orbita, dolní ret a dýchací cesty. Po PDT - minimum vedlejších a nežádoucích účinků.
Premaligní léze v dutině ústní	5-ALA-PDT → pro tenké mírné a střední dysplázie. mTHPC-PDT → pro silnější mírné a střední dysplázie, těžké dysplázie, ca in situ.

(Převzato: Vogl TJ, Eichler K, Mack MG, Zangos S, Herzog C, Thalhammer A, Engelmann K. *Interstitial photodynamic laser therapy in interventional oncology*. Eur Radiol 2004;14:1063-1073.)

Tab. 5.4. Některé další aplikace PDT:

Rok	Jméno	Aplikace
-----	Carruth a McKenzie	léčba povrchových nádorů kůže hlavy a krku
1980	Batata a spol.	1980 - první endoskopická PDT (Japonsko)
1982-1987	Cortese a Kinsey	léčba plicních tumorů pomocí PDT
1982-1987	McCaughan a spol.	léčba nádorů jícnu
-----	Roswell Park Cancer Institute (New York)	léčba recidivujících kolorektálních karcinomů
-----	Kató a spol.	léčba karcinomů žaludku
-----	Okuda a spol.	léčba nádorů žaludku a jícnu
-----	Thomas a spol.	léčba karcinomů jícnu
-----	Jina spol.	léčba 120 pacientů s tumory jícnu, žaludku, rekta

(Převzato: *Krasner N, Chatkani PT, Barr H. Photodynamic Therapy of Tumours in Gastroenterology---a Review. Lasers Med Sci 1990;5:233-239.*)

### 5.1.7. Systémová fotodynamická terapie (iPDT)

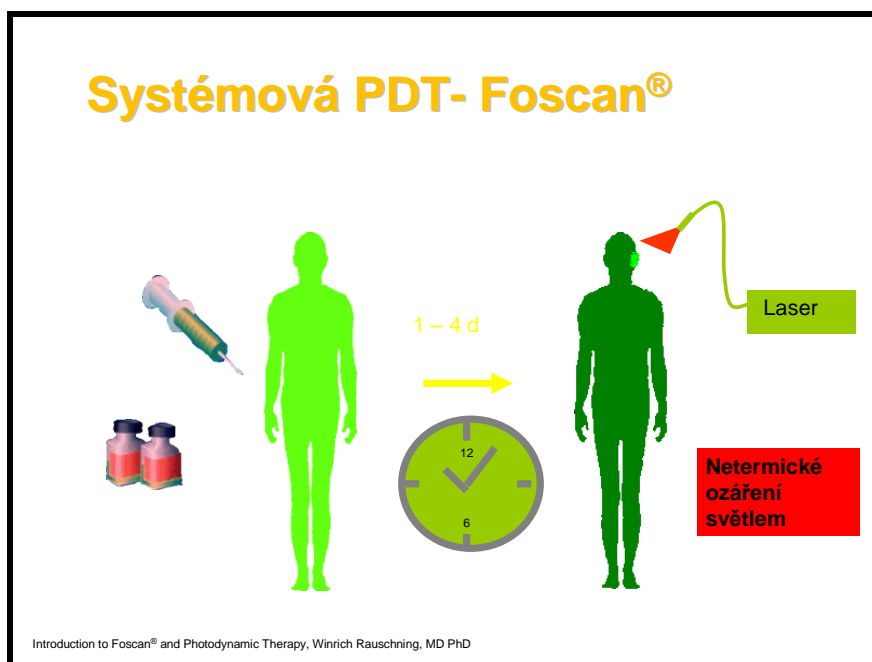
#### 5.1.7.1. Úvod a princip iPDT

Nejčastějším maligním onemocněním v oblasti hlavy a krku je spinocelulární karcinom. Výskyt orálního spinocelulárního karcinomu (OSCC) zůstává vysoký. Po celém světě je hlášeno přibližně 405 000 případů výskytu OSCC každý rok, výskyt se zvyšuje v mnoha zemích. Orální a oro-faryngeální karcinomy jsou řazeny jako 6. nejčastější nádor na světě. Přibližně 30-40 % pacientů s karcinomem hlavy a krku mají přetrvávající nebo recidivující loko-regionální onemocnění po dokončení definitivní léčby (chirurgie, radioterapie a chemoterapie). Přes pokroky v chirurgii a radioterapii, které řadíme k základním léčebným modalitám, zůstala úmrtnost téměř bez změny po celá desetiletí (5leté přežitím kolem 45-50 %). Diagnóza je nejčastěji stanovena v 5. nebo 6. dekádě (střední věk 62 let), zvyšující se trend je pozorován u mladé populace (spojováno s HPV) pod 45 let (6 %). Poměr mužů a žen je 1,5:1. Protože je OSCC heterogenní onemocnění, snažíme se o jeho systematizaci současně užitím TNM klasifikace (staging), doplněné patologickými informacemi z primárního nádoru (grading). Zhoršení TNM úměrně zhoršuje prognózu nádorového onemocnění (TNM systém je dobrý indikátor nádorové prognózy). Míru přežití snižuje i kumulativní účinek kouření a alkoholu [109, 110, 111, 112, 113, 114].

Velikost nádoru je jeden z nejdůležitějších faktorů, které ovlivňují prognózu, směřují klinika k rozhodnutí o event. léčbě (chirurgie, radioterapie, chemoterapie, fotodynamická terapie). Velikost nádoru má vliv na další šíření (místní i regionální), vznik recidiv a zhoršuje prognózu [115].

Většina nádorů hlavy a krku se vyskytuje v blízkosti důležitých anatomických struktur. Tato diagnóza je většinou spojena s morbiditou, sníženou kvalitou života a obecně se špatnou prognózou. Základem léčby pro pokročilé nádory hlavy a krku je chirurgie a radioterapie s nebo bez chemoterapie. Pokud tyto léčebné metody selžou, další možnosti terapie jsou velmi omezené. Jednou z eventualit je použití minimálně invazivních chirurgicky zaměřených ošetření, jako je např. fotodynamická terapie. Fotodynamická terapie (PDT) se

postupně stává „4. modalitou“ vzhledem k příznivým výsledkům v řízení pokročilých nádorů hlavy a krku. Princip systémové fotodynamické terapie ukazuje obrázek 5.7. Indikace systémové PDT (Foscan®) je u pacientů, kteří neuspěli s předchozí léčbou nebo nejsou vhodní pro radioterapii, chirurgii nebo systémovou chemoterapii [97, 116].



Obr. 5.7. Princip iPDT: Fotosenzibilizátor aplikován i.v. (pomalou aplikací). Po inkubaci dojde k aktivaci pomocí laseru, kdy je vlákno zavedeno přímo do nádorové tkáně.

(Převzato z přednášky :*Introduction to Foscan® and Photodynamic Therapy*, Winrich Rauschnig, MD PhD, Managing director, Biolitec).

V EU je Temoporfin (mTHPC, Foscan®) licencován pro paliativní léčbu pacientů s pokročilými SCC hlavy a krku; kde předešlé terapie byly neúspěšné a jiné terapie byly pro pacienty nevhodné [117]. V Německu je PDT s Foscanem® v současné době schváleno pouze pro paliativní léčbu pacientů s recidivujícími SCC hlavy a krku, kteří nejsou kandidáti pro radioterapii, chirurgii nebo systémovou chemoterapii [118].

Nevýhody konvenční radioterapie v dutině ústní jsou mukozitidy, xerostomie, osteoradionekróza. Chirurgická excize vede vždy k určité míře „zmrzačení“. Fotodynamická terapie způsobuje aktivaci dříve podaného fotosenzitivního agens pomocí nízké energie červeného světla nekrózu cílové tkáně [99]. Cílem iPDT u pacientů s perzistentními a recidivujícími nádory hlavy a krku je:

- snížení velikosti nádoru,
- úleva symptomatická: bolest, účinek tlaku, dýchací a polykací obtíže, vylučování (vyprazdňování) [119].

#### 5.1.7.2. Výhody a nevýhody iPDT

Systémová PDT postrádá systémovou toxicitu, následkem terapie je selektivní zničení nádoru se zachováním normální tkáně. Tato výhoda je významná u nádorů hlavy a krku pro



funkční výsledek a kosmetický efekt. Navíc, jelikož se jedná o zcela odlišný proces působnosti, užití chemoterapie, radioterapie nebo chirurgie nevylučuje užití PDT. PDT je možno i několikrát opakovat [100].

Nežádoucími účinky po systémové PDT jsou zbytková systémová fotosenzitivita (kožní popáleniny hlášeny i 6 týdnů po terapii) a bolest. Bolest je obvykle mírné až střední závažnosti, přetrvává obvykle po dobu 2-4 týdnů. Menší koncentrace fotosenzibilizátoru v kůži mohou vést k edému nebo dokonce k povrchovým kožním nekrotizacím (viz obr. 5.8.) [120].



Obr. 5.8. Náhodné vystavení slunečnímu záření 2 týdny po fotodynamické terapii vedlo k popálení kůže na dorzální straně ruky spojené s ulcerací a loupáním kůže.

(Převzato : Jerjes W, Upile T, Akram S, Hopper C. *The surgical Palliation of Advanced Head and Neck Cancer using Photodynamic Therapy. Clinical Oncol* 2010;22:785-791. )

#### 5.1.7.3. Dodávka světla - aktivace fotosenzibilizátoru při iPDT

Základním principem fotodynamické terapie je selektivní vychytávání a zadržování (retence) systémově aplikovaného fotosenzibilizátoru v nádorové tkáni [121].

Osvětlení:

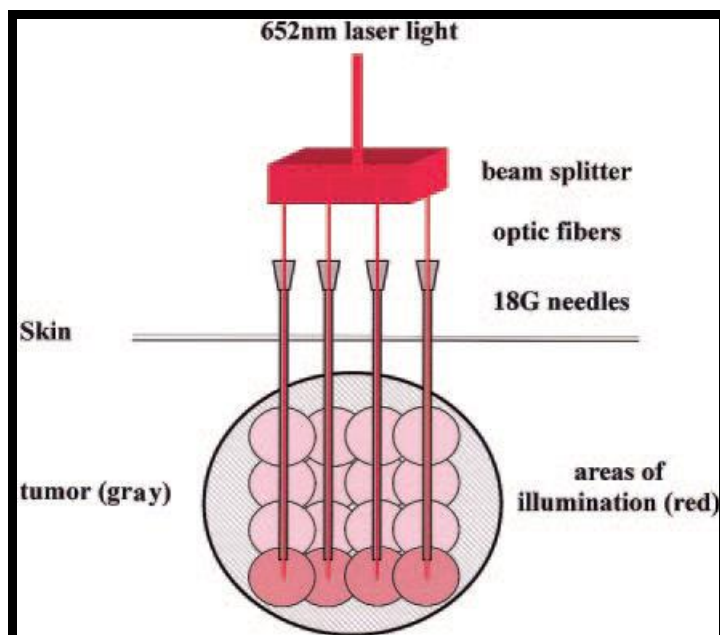
- Povrchové: lze využít při léčbě povrchových lézí nebo povrchových nádorů (úspěšný způsob a hloubku efektu lze dosáhnout až 1 cm (např. při použití fotosenzibilizátoru mTHPC).
- Intersticiální: problém vzniká při léčbě hluboce uložených nádorů. Zde je zapotřebí, aby pomocí speciální jehly bylo laserové vlákno dodávající světlo přímo vloženo do cílové tkáně (viz obr. 5.9.). Tomuto napomáhají zobrazovací techniky.

Počáteční řízení léčby zahrnuje detailní předoperační zobrazení, které umožní přesné stanovení velikosti a hloubky nádoru. Zobrazovací techniky v průběhu PDT usnadňují správnou instalaci jehly nebo jehel do cílové tkáně. Skrz jehlu se zavádí laserové vlákno do nádorové tkáně, konec vlákna musí vyčnívat 2-3 mm od hrotu jehly (pro maximální osvětlení tkáně). Řízení iPDT a způsob doručení a vedení světla ukazují obrázky 5.10.-5.12. Naváděcí modalita zahrnují:

- 2D ultrazvuk,
- MRI,
- CT,
- Endoskopy (nosní endoskopy),



- Laryngoskopy,
- Bronchoskopy [97, 122].



Obr. 5.9.: Primární laserový paprsek (652 nm) je rozdělen do 4 léčebných vláken, které umožňují dodání světla současně na čtyřech místech. Optická vlákna jsou vložena přes 18 G jehly (zavedeny pod kontrolou zobrazovací techniky) přímo do cílové tkáně a konce vyčnívají mírně přes hroty jehel. V rámci těchto vláken je ozářena plocha okolo 1 cm v poloměru, ve kterém je aktivován fotosenzibilizátor. Nejhlubší části nádoru jsou osvětleny jako první (červené koule), po posunutí jehly s laserovým vláknem o 1 cm se postupně ozáří postupně celý nádor (růžové koule).

(Převzato: Jüger HR, Taylor MN, Theodossy T, Hopper C. *MR Imaging-Guided Interstitial Photodynamic Laser Therapy for Advanced Head and Neck Tumors. Am J Neuroradiol* 2005;26:1193-1200.)

#### 5.1.7.4. iPDT v chirurgii hlavy a krku

K dispozici jsou data čítající více než 1300 pacientů léčených PDT za použití Photofrinu, HPD, ALA nebo Foscanu. Tito pacienti reprezentují skupinu primárních, recidivujících a metastatických lézí. Histologicky se jedná o skupinu pacientů s heterogenními typy nádorů od SCC, přes slizniční melanom, Kaposiho sarkom, adenokarcinom, metastazující karcinom prsu, až po adenoidně cystický karcinom. Tyto studie ukazují účinnost této minimálně invazivní léčby časných primárních a recidivujících nádorů orofaryngu, stejně jako paliativní léčbu odolných (refrakterních) nádorů hlavy a krku. Výsledky ukazují, že PDT je excelentní modalitou léčby nádorů hlavy a krku (viz tab. 5.5. a 5.6.) [100].

Tab. 5.5. Shrnutí publikovaných výsledků Photofrin-PDT časných SCC hlavy a krku.

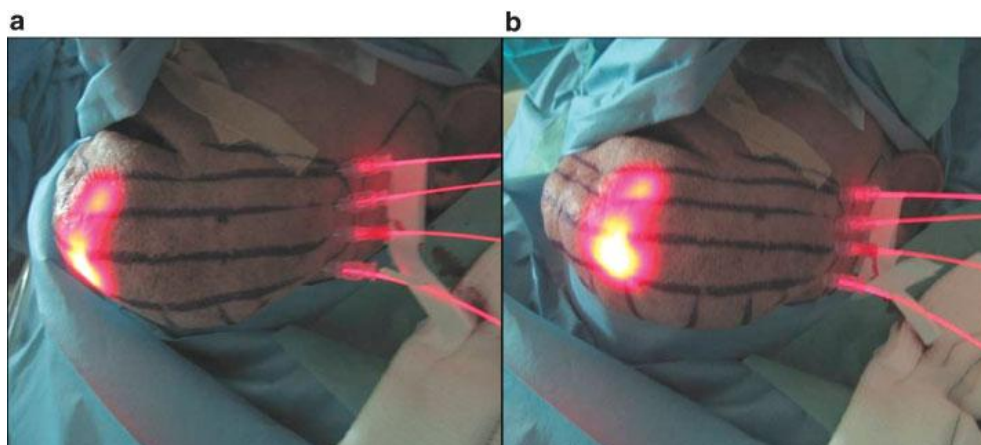
Studie	Pacienti	Léze a lokalita	Fotosenzibilizátor, dávka, mg/kg	Odpověď		
				Kompletní	Parciální	Žádná
Keller et al.	3	T1 and T2, ústní dutina	Photofrin, 1.5-2	3	0	0
Feyh et al.	15	T1 and T2, ústní dutina	Photosan III	13	2	0
	12	T1 and T2, hrtan	Photosan III	11	1	0
Wenig et al.	26	T1 recid., různá místa	Photofrin, 2	20	6	0
Grossweiner et al.	9	Ústní dutiny a hltan	Photofrin, 2	8	1	0
Freche et al.	32	T1, hrtan	HPD, 3	25	7	0
			Photofrin, 2			
Schweitzer	10	T1, ústní dutina	Photofrin, 2	8	2	0
	10	T1, hrtan		8	2	0
Gluckman	13	T1, dutina ústní	Photofrin, 2	11	2	0
	2	T1, hrtan		2	0	2
	8	Cis, mukóza		7	1	0
Grant et al.	12	T1, ústní dutina	Photofrin, 2	11	1	0
Biel	110	T1 a T2 hrtan	Photofrin, 2	100	10	0
	112	T1 a T2 ústní dutina		106	6	0
	40	T2 a T3 superficiální		37	3	0
Zhao et al.	50	Ca rtu	HPD, 3	50	0	0
Kulapeditheron	41	Ústa a nosohltan	Photofrin 2	30	11	0

(Převzato: *Biel, M. Advanced in Photodynamic Therapy for the Treatment of Head and Neck Cancers. Lasers Surg and Med 2006;38:349-355.*)

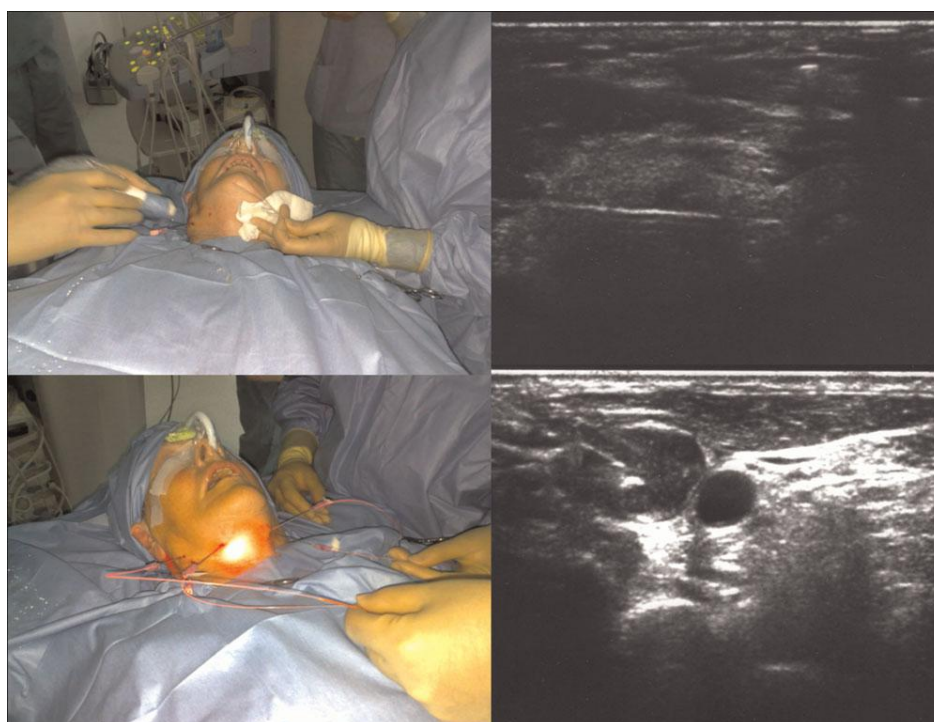
Tab. 5.6. Shrnutí publikovaných výsledků ALA a Foscan-PDT časných SCC hlavy a krku.

Studie	Pacienti	Léze a lokalita	Fotosenzibilizátor	Odpověď		
				Kompletní	Parciální	Žádná
Grant et al.	4	Ústní dutina	ALA	3	1	0
Fan et al.	18	Dysplazie, ca dutiny ústní	ALA	14	4	0
Sieron et al.	5	Hrtan, hypofarynx	ALA	0	5	0
Kubler et al.	12	Orální leukoplakie	ALA	5	4	3
Dilkes et al.	19	T1 a T2 dutiny ústní a hltanu	Foscan	10	9	0
Savary et al.	4	Tis, T1 dutiny ústní	Foscan	4	0	0
Fan et al.	6	Tis, T1, T2 dutiny ústní	Foscan	6	0	0
Kubler et al.	25	Tis-T2 ca rtu	Foscan	22	3	0
Hopper et al.	114	Tis-T2 dutiny ústní	Foscan	97	17	0
Cooper et al.	25	T1, T2 ústní dutiny a hltanu	Foscan	25	4	0

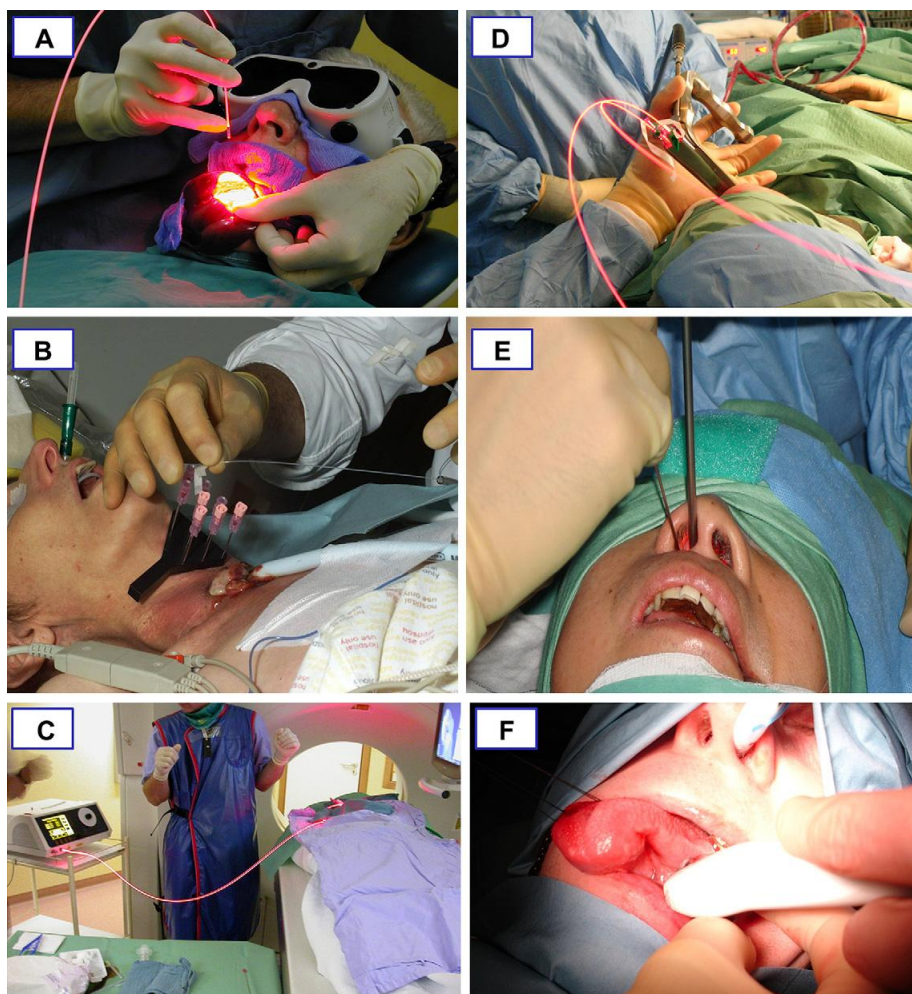
(Převzato: *Biel, M. Advanced in Photodynamic Therapy for the Treatment of Head and Neck Cancers. Lasers Surg and Med 2006;38:349-355.*)



Obr. 5.10. Ilustrace „táhnout zpět-metody“ pro léčbu objemné trojrozměrné tkáně: a) léčba ( $20 \text{ J/cm}^2$ ) z přední oblasti brady ve velké lymfatické malformaci se čtyřmi klinicky paralelně zavedenými vlákny; b) po stáhnutí o 1 cm vlákna, další ošetření (opět  $20 \text{ J/cm}^2$ ) se provádí laterálně od předešlé terapie. Tento postup je opakován až do asi 1,5 cm pod bodem vstupu.  
(Převzato: **Betz CS, Jäger HR, Brookes JAS, Richards R, Leunig A, Hopper C. Interstitial Photodynamic Therapy for a Symptom-Targeted Treatment of Complex Vascular Malformations in the Head and Neck Region. Lasers Surg and Med 2007;39:571-582.**)



Obr. 5.11. US-vedená (řízená) systémová fotodynamická terapie (iPDT) karcinomu jazyka. Vlevo nahoře: za kontroly ultrazvuku zavedena transkutánní jehla do nádoru jazyka. Vpravo nahoře: US obrázek znázorňující jehlu zavedenou do cílové tkáně (nádoru jazyka). Vpravo dole: US obrázek ukazuje dvě metastatické krčních uzliny a zavedenou jehlu do jedné z nich. Vlevo dole: Doručení světla do nádoru jazyka a krčních lymfatických uzlin.  
(Převzato: **Jerjes W, Upile T, Hamdoon Z, Abbas S, Akram S, Mosse CA, Morley S, Hopper C. Photodynamic Therapy: The Minimally Invasive Surgical Intervention for Advanced and/or Recurrent Tongue Base Carcinoma. Lasers Surg and Med 2011;43:283-292.**)



Obr. 5.12. Způsob doručení a vedení světla (iPDT): (A) Plocha osvětlení; (B) iPDT vedená prefabrikovanou mřížkou; (C) iPDT řízená magnetickou rezonancí, (D) iPDT řízená laryngoskopem; (E) iPDT vedená nosním endoskopem; (F) iPDT řízená ultrazvukem. (Převzato: Jerjes W, Upile T, Akram S, Hopper C. *The surgical Palliation of Advanced Head and Neck Cancer using Photodynamic Therapy. Clinical Oncol* 2010;22:785-791.)

### 5.1.8. Diagnostika a fluorescence

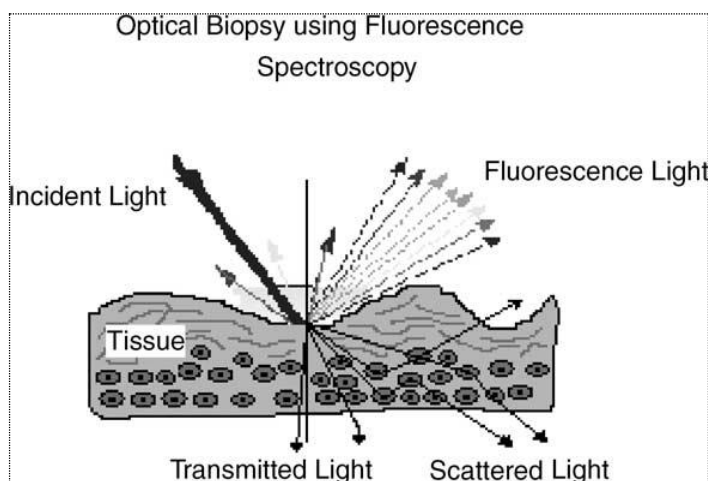
Fotosenzibilizátor lze použít i při diagnostice, využíváme při ní fluorescenci. Tento jev napomáhá detekci dysplazie nebo nádoru. „Zlatým standardem“ posuzování patologických změn v tkáni je bezesporu histopatologie. Nicméně zpracování bioptického materiálu a interpretace výsledků nevyhnutelně vede k diagnostickému zpoždění a přidání možnosti odebrání nereprezentativního vzorku. V poslední době proto roste zájem o využívání optických spektroskopických systémů, které by byly schopny poskytnout tkáňovou diagnózu v reálném čase, neinvazivně a in situ. Tyto techniky nejen ukazují svoji roli při odhalování dysplazie a malignity, ale také při provádění řízené biopsie, sledování tkáňové perfúze v mikrochirurgicky přenesených volných štěpech a terapeutickém stanovení hladiny léku během chemoterapie a fotodynamické terapie. Pokroky v optické diagnostické technice umožňují lépe definovat chirurgické okraje a tím zvýšit míru skutečně negativních okrajů na



jedné straně a na druhé straně odstranění jen potřebného množství tkáně s ponecháním funkce životně důležitých struktur [94, 123].

### 5.1.8.1. Fluorescenční spektroskopie

Když buňky komunikují se světlem, dochází k excitaci a opětovně vyzařují světlo různých barev (fluorescence) a to může být zachyceno citlivými přístroji - spektrometry. Po ozáření tkáně ultrafialovým světlem dochází k fluorescenci (lze tak vidět ohraničení nádoru). Všechny tkáně fluoreskují vzhledem k přítomnosti fluorescenčních chromoforů (fluoroforů) uvnitř jich samých. Fluorescenční spektroskopie (viz obr. 5.13.) může detekovat tyto látky a poskytovat charakteristická spektra, která odrážejí biochemické změny probíhající v rámci tkáně [16, 94].



Obr. 5.13. Princip fluorescenční spektroskopie.

(Převzato: Vogl TJ, Eichler K, Mack MG, Zangos S, Herzog C, Thalhammer A, Englemann K. *Interstitial photodynamic laser therapy in interventional oncology. Eur Radiol* 2004;14:1063-1073.)

Fluorescenci můžeme detekovat jako:

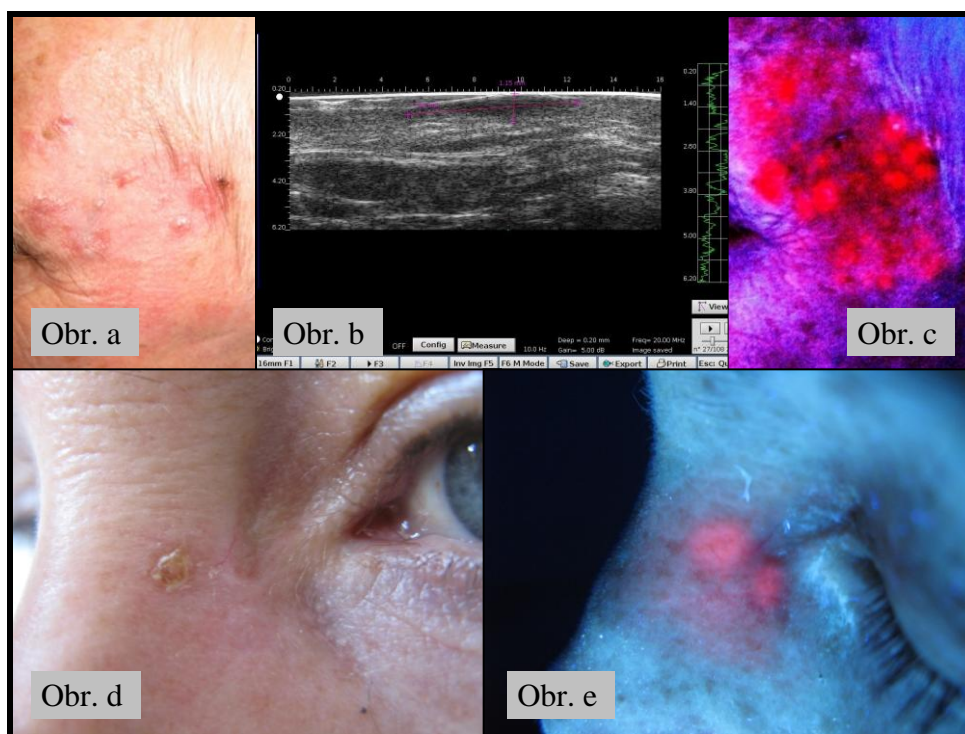
- Autofluorescenci - jev vyvolaný UV zářením,
- laserem indukovaný jev,
- fluorescence může být zvýšena buď lokální, nebo systémovou aplikací 5-aminolevulové kyseliny (ALA).

Dysplastické a maligní tkáně mají různé spektrální charakteristiky, mívají zvýšenou červenou fluorescenci a sníženou zelenou fluorescenci. Výrazné zvýšení červené/zelené fluorescence je poměr přesně předpovídající dysplazii nebo malignitu. Maligní tkáně mají omezenou schopnost metabolizovat železo, takže exogenní podání kys. aminolevulové (ALA) bude mít za následek zvýšení intracelulárního protoporfyrinu IX, který zvyšuje tkáňovou fluorescenci [124].

### 5.1.8.2. Diagnostika - využití ultrazvuku při PDT

Hloubka průniku topicky aplikované 5-ALA do epiteliální tkáně je omezena na asi 2 mm [125]. ALA-PDT nedosahuje hlubší nádorové úrovně, proto není aplikována u více invazivních bazocelulárních karcinomů. Pro hlubší (invazivní) bazaliomy je tak doporučován systémově aplikovaný fotosenzibilizátor [126].

V diagnostice a naplánování terapie (PDT) bazocelulárních karcinomů může být velmi dobře nápomocno sonografické vyšetření. Pomocí ultrazvuku jsme schopni stanovit hloubku ložiska BCC, která je limitující pro indikaci topické fotodynamické terapie. V případě, že se změřené hloubky léze pohybují v hraničních hodnotách pro aplikaci PDT (větší než 2 mm), je výhodné indikovat buď chirurgickou excizi, nebo použít některý z laserů (Er:YAG, CO<sub>2</sub> laser, diodový laser) pro zmenšení hloubky ložiska BCC, a zvýšit tak efektivitu vlastní fotodynamické terapie [127]. Diagnostiku pomocí fluorescence a ultrazvuku u BCC ukazuje obr. 5.14.



Obr. 5.14. Diagnostika pomocí fluorescence a ultrazvuku. Obr. a) pacient před vyšetřením, obr. b) sonografické vyšetření pacienta a stanovení hloubky BCC, obr. c) vyšetření fluorescence pacienta z obr. a); obr. d) stav pacienta s ložiskem BCC před vyšetřením, e) tentýž pacient při vyšetření fluorescence.

### 5.1.9. Bazocelulární karcinom (bazaliom, BCC)

#### 5.1.9.1. Úvod, obecné aspekty

Bazocelulární karcinom (bazaliom, BCC) je nejčastější formou rakoviny kůže a vychází z bazální vrstvy epidermis. Jeho metastatický potenciál je nízký, ale i tak se stále

kvalifikuje jako maligní onemocnění, protože vykazuje lokálně agresivní, invazivní růst. Výskyt ukazuje nápadné geografické variace, které vysoce korelují s úrovní okolního ultrafialového záření pro každé místo, nejvyšší počty jsou udávány v Austrálii (více než 2000/100000 mužů za rok), naopak nejnižší zastoupení má Rusko a Finsko (38, resp. 49 nových případů/100 000 mužů za rok), střední Evropa a USA leží někde uprostřed.

Rizikové faktory pro rozvoj BCC jsou:

- geografický faktor,
- mužské pohlaví,
- vyšší věk.

Celosvětový výskyt tohoto onemocnění je na vzestupu, což může být částečně vysvětleno zvýšením průměrného věku ve většině zemí. Ale není výjimkou výskyt BCC u mladší populace, i pod 40 let. Na rozdíl od incidence, mortalita BCCs je obvykle velmi nízká (v Německu 4 BCC/100 000 obyvatel za rok) [128].

Hlavní příčinou tohoto nádoru je vystavení slunečnímu záření - u bílé rasy je výskyt spojený s věkem a kumulativním působením ultrafialového záření B. Na vzniku těchto nádorů se podílí i chemické karcinogeny, ionizující záření, chronická ulcerace, imunosuprese nebo genetické vady. Vzhledem k jejich vzniku je většina kožních nemelanomových nádorů lokalizována na kůži vystavené slunečnímu záření (80 % bazaliomů a spinaliomů je lokalizováno na hlavě a krku). I po vyléčení je riziko nových kožních nádorů vysoké. Asi u 50 % pacientů s anamnézou nemelanomových kožních nádorů se bude vyvíjet nová rakovina kůže i na jiném místě (do 5 let) [102, 129, 130].

### **5.1.9.2. Terapie BCC**

Kožní nádory mohou být léčeny chirurgickými a nechirurgickými metodami. Závisí to na lokalizaci nádoru, velikosti, typu (primární, recidiva), na histologii a morbiditě pacienta.

Léčebné možnosti:

- chirurgická excize
- Mohsova (Moh's) mikroskopická chirurgie
- kryochirurgie
- kyretáž, kauterizace
- laserová ablace
- radioterapie
- topická imunoterapie
- fotodynamická terapie [102, 129, 131].

Faktory, které ovlivňují prognózu bazocelulárních karcinomů, ukazuje podrobně tab. 5.7. [131].

Tab. 5.7. Faktory ovlivňující prognózu BCC

Faktor	Vliv na prognózu BCC
Nádorová velikost	růst velikosti značí vyšší riziko recidivy
Nádorové místo	léze v centrální části obličeje, především kolem očí, nosu, rtů a uší zvyšují riziko recidivy
Definice klinických okrajů	špatně definované léze značí vyšší riziko recidivy
Histologické subtypy	určité subtypy znamenají vyšší riziko recidivy
Histologické vlastnosti a agresivita	perineurální a/nebo perivaskulární účast znamená vyšší riziko recidivy
Selhání předchozí terapie	recidivující léze zvyšují riziko recidivy
Imunosuprese	možná zvyšuje riziko recidivy

(Převzato: Telfer NR, Colver GB, Morton SA. *Guidelines for the management of basal cell carcinoma. Br J Dermatol* 008;159:35-48.)

## 5.2. Hypotézy a cíle práce

### 5.2.1. Hypotézy

Účinnost topické fotodynamické terapie u bazocelulárních karcinomů zásadním způsobem ovlivňuje hloubka průniku fotosenzibilizátoru do kůže, tím je metoda (PDT) omezena maximálně na 1-2 mm [108, 125]. Abychom dosáhli podobných výsledků u nodulárních nebo obecně u recidivujících bazaliomů jako u superficiálních BCC, je třeba zvýšit účinnost metody.

- Aktivujeme-li fotosenzibilizátor pulzním barvivovým laserem (ScleroPlus, Candela, USA), který kromě aktivace fotodynamické terapie fotoselektivní koagulací nekrotizuje i tumor, můžeme zvýšit účinnost samotné fotodynamické terapie (viz dále PDT studie I).
- Další možností, jak zvýšit účinnost metody (PDT), je ovlivnit (tj. zmenšit) velikost ložiska bazocelulárního karcinomu před vlastní fotodynamickou terapií. Toho můžeme dosáhnout použitím různých typů laserů (v našem případě laseru diodového). Aplikací diodového laseru o vlnové délce 980 nm (Cerelas D 25, CeramOptec, Bonn, Německo) před fotodynamickou terapií můžeme zlepšit výsledný léčebný efekt této metody (viz PDT studie II).
- Předpokládáme, že fotodynamická terapie bude dobře snášena pacienty jak v PDT studii I, tak v PDT studii II, kde bude navíc kombinována ještě primárně s aplikací diodového laseru.

### 5.2.2. Cíle práce

Tato „ČÁST C“ disertační práce je zaměřena na zhodnocení účinnosti topické fotodynamické terapie při léčbě bazocelulárních karcinomů hlavy a krku, včetně subjektivního vnímání metody samotnými pacienty. K této tématice se vztahují dvě studie (PDT studie I a PDT studie II), které jsme provedli v Centru fotonické medicíny Všeobecné



fakultní nemocnice v Praze. V rámci těchto studií jsme se snažili určitým způsobem modifikovat klasický terapeutický protokol fotodynamické terapie tak, abychom závěrem docílili vyšší efektivity metody.

#### **5.2.2.1. PDT studie I**

V této studii jsme se zaměřili na zvýšení efektivity fotodynamické terapie u recidivujících bazocelulárních karcinomů. Modifikace PDT v tomto případě byla směřována k ovlivnění aktivace fotosenzibilizátoru, kdy v metodě A jsme použili červené světlo a v metodě B pulzní barvivový laser.

Dílčí cíle práce, které byly stanoveny:

- Naplánovat studii s tématem zvýšení účinku fotodynamické terapie synchronní aplikací pulzního barvivového laseru při léčbě recidivujících bazocelulárních karcinomů.
- Shromáždit soubor pacientů s recidivujícími bazocelulárními karcinomy hlavy a krku, kteří byli indikováni k fotodynamické terapii a kteří současně dali souhlas se vstupem do naší studie.
- Provést vlastní fotodynamickou terapii recidivujících BCC, kde k aktivaci fotosenzibilizátoru bylo použito buď červeného světla, nebo pulzního barvivového laseru.
- Dispenzarizovat pacienty v pooperačním období.
- Zhodnotit vliv aktivace fotosenzibilizátoru na výslednou efektivitu fotodynamické terapie. Zaměřit se i na subjektivní vnímání fotodynamické terapie samotnými pacienty.
- Sumarizovat výsledky, závěry.

#### **5.2.2.2. PDT studie II**

V této studii jsme se zaměřili na zvýšení efektivity fotodynamické terapie tím, že jsme se již primárně snažili ovlivnit velikost (rozsah i hloubku) ložiska bazocelulárního karcinomu (sBCC/nBCC). K tomuto účelu jsme zvolili laserovou intervenci (v našem případě jsme použili diodový laser). Tentokrát byla modifikace PDT směřována v úpravě vlastního terapeutického protokolu, který byl rozšířen o aplikaci diodového laseru před vlastní fotodynamickou terapií.

Dílčí cíle práce, které byly stanoveny:

- Naplánovat studii s tématem zvýšení účinku fotodynamické terapie kombinací aplikace diodového laseru a PDT při léčbě superficiálních a nodulárních bazocelulárních karcinomů.

- Shromáždit soubor pacientů se superficiálními a nodulárními bazocelulárními karcinomy hlavy a krku, kteří byli indikováni k fotodynamické terapii a kteří by souhlasili se vstupem do naší studie.
- Naplánovat průběh vlastní terapie, tj. kombinace aplikace diodového laseru a fotodynamické terapie.
- Dispenzarizovat pacienty v pooperačním období.
- Zhodnotit vliv kombinované terapie (diodový laser + PDT) na výslednou efektivitu fotodynamické terapie. Zaměřit se opět i na subjektivní vnímání fotodynamické terapie samotnými pacienty.
- Sumarizovat výsledky, závěry.

## **5.3. PDT studie I**

### **5.3.1. Materiál a metodika**

#### **5.3.1.1. Charakteristika souboru pacientů**

Cílem této prospektivní studie bylo zhodnotit léčebnou úspěšnost dvou námi zvolených metod (metody A a metody B, vysvětleno viz níže v textu) při terapii recidivujících bazaliomů a zjistit i subjektivní hodnocení léčebných metod samotnými pacienty. Největší důraz byl kladen na zjištění recidiv v přesně vymezených časových horizontech (kontrolní vyšetření po 1, 6 a 12 měsících od primární léčebné kúry). Studie probíhala od listopadu roku 2004 do ledna roku 2005.

Základní soubor pacientů, ze kterého jsme v naší studii vycházeli, čítal celkem 31 osob, z toho bylo 16 mužů (tj. 52 % z celkového počtu pacientů) a 15 žen (tj. 48 % z celkového počtu pacientů). Průměrný věk pacientů zahrnutých do studie byl 62,5 let; u mužů 62,44 a u žen 62,46.

Dle četnosti výskytu bazocelulárních karcinomů jsme sledovali jak solitární léze (přítomnost jen jednoho ložiska BCC; 15 pacientů, tj. 48 % z celkového souboru pacientů), tak pacienty s mnohočetnými (více jak 5 lézí za život) opakovaně recidivujícími ložisky BCC (16 pacientů, tj. 52 % z celkového souboru pacientů).

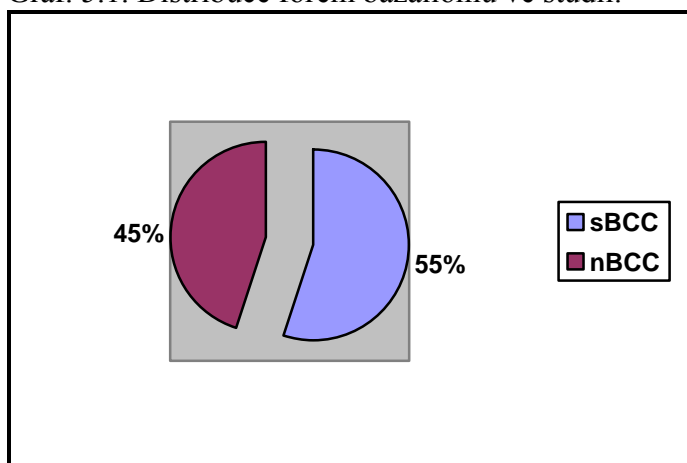
Z klinických kategorií se jednalo o superficiální nebo nodulární BCC. Veškeré afekce byly histologicky verifikovány a všechny byly v minulosti neúspěšně léčeny chirurgickou intervencí (excizí), po které vždy následovalo histologické vyšetření vzorku. Ze studie byli předem vyřazeni pacienti, kteří nepodstoupili kontroly v daných intervalech, tj. za 1 měsíc, za 6 a 12 měsíců. Při kontrolách po uplynutí 1 roku byla akceptována tolerance do 3 týdnů.

Celkový počet lézí byl 128, z čehož superficiální BCC (sBCC) tvořilo 70 afekcí (tj. 55 % z celkového počtu afekcí), nodulární BCC (nBCC) tvořilo 58 afekcí (tj. 45 % z celkového počtu afekcí). Viz Tab. 5.8. a graf. 5.1.

Tab. 5.8. Zastoupení počtu lézí BCC a použité metody léčby

Celkový počet lézí				Použitá metoda léčby		
128	Typ BCC	Počet	%	Metoda	Počet	%
	sBCC	70	55	A	34	27
				B	36	28
	nBCC	58	45	A	28	22
				B	30	23

Graf. 5.1. Distribuce forem bazaliomů ve studii.



### 5.3.1.2. Metodika

Terapeutický protokol jsme zahajovali skarifikací kůže v oblasti ložiska BCC pro zvýšení průniku fotosenzibilizátoru k nádorovým buňkám, k čemuž jsme používali exkochleační lžičku (Medin, Česká republika). Výkon jsme prováděli ve většině případů bez jakéhokoli znecitlivění, jen výjimečně jsme museli aplikovat lokální anestézii (4% Supracain, Zentiva, Česká republika). Poté jsme v tenké vrstvě nanесли fotosenzibilizátor ve formě masti, přičemž vrstva byla tenká 0,1 cm a šíře vrstvy přesahovala laterálně o 1 cm rozsah viditelné hranice ložiska BCC. Celé ložisko jsme přelepili folií (např. Tegaderm, 3M, USA) k zajištění inkubace a tím hlubší penetrace účinné látky. Pro zamezení předčasné aktivace fotosenzibilizátoru, např. denním či umělým světlem, bylo nutné ložisko ještě krýt pro světlo nepropustnou vrstvou (nesterilní chirurgické gázové čtverce - Sunmed, Čína). Následovala 3 hodinová inkubace, tj. doba, po kterou proniká fotosenzibilizátor do nádorových buněk. Po uplynutí časového horizontu se okluzní fólie sejmula a fotosenzibilizátor se aktivoval. Vzhledem k mírné bolestivosti způsobené vznikajícím teplem, se ložisko kontinuálně ochlazovalo, např. proudem vzduchu (k tomuto účelu vyhovoval i obyčejný bytový ventilátor). V protokolu léčby doporučené výrobcem je opakování procesu po 7 dnech bez ohledu na výsledek prvního ošetření. V naší studii jsme použili jen jednu léčbu, čímž jsme se pokusili kvantifikovat výsledky ekonomičtějšího protokolu a též přesněji rozdělit výsledky obou metod. Obr. 5.15. ukazuje vybavení pro aplikaci PDT.

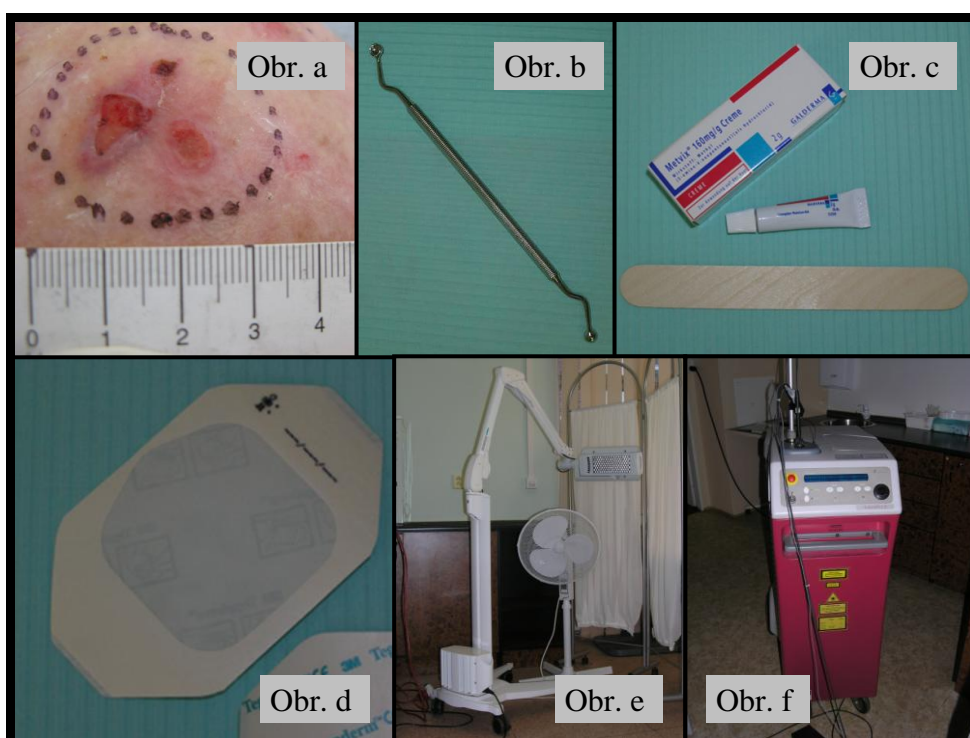
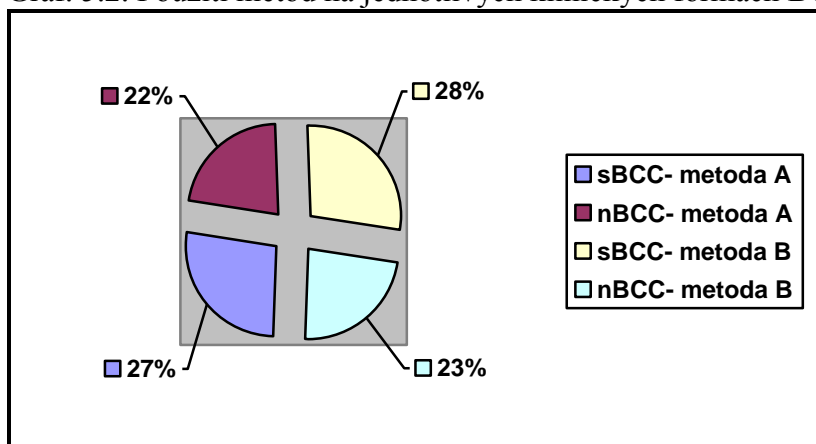
V této studii jsme porovnávali dvě metody aktivace fotosenzibilizátoru:

- Metoda A - aktivovali jsme fotosenzibilizátor červeným světlem (Aktilite, vlnová délka 632 nm a výkon 4 W) po dobu 20 minut ze vzdálenosti 5-8 cm od ložiska BCC.

- Metoda B - aktivovali jsme fotosenzibilizátor pulzním barvivovým laserem (ScleroPlus, Candela, výkon  $20 \text{ J/cm}^2$ ) ze vzdálenosti dané distanční tyčkou (6cm).

Metodu A jsme použili u 14 pacientů (tj. 45 % z celkového souboru pacientů) na léčbu 62 afekcí (tj. 48 % z celkového počtu afekcí), z toho sBCC bylo 34 afekcí (27 %) a nBCC 28 afekcí (22 %). Metodu B jsme použili u 17 pacientů (tj. 55 % z celkového souboru pacientů) na léčbu 66 afekcí (tj. 52 % z celkového počtu afekcí), z toho bylo sBCC 36 afekcí (28 %) a nBCC 30 afekcí (23 %). Viz graf 5.2.

Graf. 5.2. Použití metod na jednotlivých klinických formách BCC.



Obr. 5.15. Vybavení pro PDT: obr. a) léze BCC, obr. b) exkochleační lžička, obr. c) Metvix® - fotosenzibilizátor, d) Tegaderm, obr. e) červené světlo - Aktilite a ventilátor f) pulzní barvivový laser.

V průběhu studie jsme kladli velký důraz na subjektivní hodnocení léčby pacientem. K tomuto účelu nám posloužila stupnice snášenlivosti od 1 do 5, kde 1 znamenala nejlepší a naopak 5 nejhorší snášenlivost použité terapie.

Další cílem této studie bylo zhodnocení výskytu recidiv. Jak již bylo výše uvedeno, kontrolní vyšetření se prováděla po uplynutí 1 měsíce, 6 a 12 měsíců od primární léčebné kúry. Objevila-li se již recidiva při kontrole po 1 měsíci, zopakovala se v příslušném lokusu léčebná kúra (sekundární léčebná kúra) a další kontrolní vyšetření se opětovně provedlo za 1 měsíc od sekundární léčebné kúry.

### 5.3.2. Výsledky

V průběhu studie jsme sledovali jak subjektivní hodnocení terapie, tj. vnímání léčby samotnými pacienty, tak objektivní hodnocení, tj. výskyt recidiv a výsledný léčebný efekt po odlišné aktivaci fotosenzibilizátoru během fotodynamické terapie.

#### 5.3.2.1. Subjektivní hodnocení

Metodu A pacienti hodnotili na stupnici snášenlivosti v průměru jako 2 (2,07) - blíže viz tab. 5.9. Metodu B hodnotili pacienti na stupnici snášenlivosti v průměru jako 2 (2,12) - blíže viz tab. 5.10. Rozdíl v subjektivním hodnocení léčby metodou A a metodou B byl statisticky nesignifikantní [ $t(29) = -0,133$ ;  $p = 0,895$ ].

Tab. 5.9. Subjektivní hodnocení metody A

Stupnice hodnocení metody A	Počet pacientů
1	3
2	8
3	2
4	1
5	0

Tab. 5.10. Subjektivní hodnocení metody B

Stupnice hodnocení metody B	Počet pacientů
1	5
2	7
3	4
4	0
5	1

#### 5.3.2.2. Objektivní hodnocení

Po uplynutí 1 měsíce od primární léčebné kúry byla zjištěna recidiva u 5 pacientů (tj. u 16 % z celkového souboru pacientů) v 6 lokusech (pouze u jednoho pacienta byla zaznamenána recidiva ve dvou lokusech, zbývajících 4 pacienti měli recidivu v jednom lokuse).

Metoda A byla použita u 4 z 5 pacientů, kde se recidiva objevila po 1 měsíci, u jednoho pacienta byla použita metoda B. Těchto 5 pacientů, u kterých se objevila recidiva, podstoupilo následně sekundární léčebnou kůru. Za 1 měsíc od sekundární léčebné kůry se neobjevila žádná recidiva. Rozdíl výskytu recidiv po terapii metodou A a B byl statisticky nesignifikantní pro t-test [ $t(126) = 1,759$ ;  $p = 0,081$ ] i pro M-W test [ $z = -1,745$ ;  $p = 0,081$ ].

Po 6 měsících od primární léčebné kůry se objevila recidiva u jednoho pacienta ve dvou lokusech (tj. u 3 % z celkového souboru pacientů). Jednalo se o prvotní výskyt recidivy u tohoto pacienta, který podstoupil léčebnou metodu A. Rozdíl výskytu recidiv po terapii metodou A a B byl statisticky nesignifikantní pro t-test [ $t(126) = 1,472$ ;  $p = 0,144$ ] i pro M-W test [ $z = -1,465$ ;  $p = 0,143$ ].

Po uplynutí 12 měsíců od primární léčebné kůry se objevila recidiva u 6 pacientů (tj. u 20 % z celkového souboru pacientů) v 8 lokusech (4 pacienti měli recidivu v 1 lokusu, zbývající 2 pacienti ve 2 lokusech). (Pozn.: Pro zajímavost lze podotknout, že u 2 ze 6 pacientů, u kterých se objevila recidiva po 12 měsících, se jednalo o recidivu afekce při užití sekundární léčebné kůry, tj. recidiva se objevila i po 1 měsíci po primární léčebné kůře. U 4 pacientů se recidiva objevila poprvé až po 1 roce od primární léčebné kůry.) Metoda A byla použita u 4 pacientů s recidivou po 12 měsících, metoda B u 2 pacientů. Viz tab. 5.11. (Pozn.: Recidiva BCC u 2 z 5 pacientů, u kterých se objevila recidiva již po 1 měsíci, se objevila i po 12 měsících. Zde bylo užito léčebné metody A.) Rozdíl výskytu recidiv 12 měsíců po terapii metodou A a B byl statisticky nesignifikantní pro t-test [ $t(126) = 0,818$ ;  $p = 0,415$ ] i pro M-W test [ $z = -0,819$ ;  $p = 0,413$ ].

Procentuální vyjádření: V odstupu 1 měsíce od primární léčebné kůry se objevila recidiva přibližně u 16 % pacientů, po 6 měsících u 3 % a po 12 měsících se recidiva vyskytla téměř u 20 % pacientů. U pacientů, kteří podstoupili léčebnou metodu A, se recidiva objevila při kontrolním vyšetření po 1 měsíci ve 28,6 %, po 6 měsících u 7 % a po 12 měsících ve 28,6 %. U pacientů podstoupivších metodu B se recidiva objevila při kontrolním vyšetření po 1 měsíci v 5,9 %, po 6 měsících žádná a po 12 měsících v 11,8 % (viz tab. 5.12.). Z výše uvedených dat lze dopočítat výslednou clearing rate (míru vyléčení) u obou metod (tab. 5.13.), hodnoty jsou vztaženy k počtu pacientů.

Tab. 5.11. Počet pacientů s recidivou v závislosti na použité metodě

Použitá metoda	1 měsíc	6 měsíců	12 měsíců
Metoda A	4	1	4
Metoda B	1	0	2

Tab. 5.12. Procentuální zastoupení pacientů s recidivou v závislosti na použité metodě

Použitá metoda	1 měsíc (%)	6 měsíců (%)	12 měsíců (%)
Metoda A + B (celkem recidiv)	16,0	3,0	20,0
Metoda A	28,6	7,0	28,6
Metoda B	5,9	0,0	11,8

Tab. 5.13. Clearing rate (počet pacientů)

Použitá metoda	Clearing rate
Metoda A	71,4%
Metoda B	89,1%

Co se týká klinické formy recidivy, která se objevila při kontrolním vyšetření po uplynutí 12 měsíců od primární léčebné kúry, tak se jednalo pouze o formu nBCC. (Recidivu u afekcí typu sBCC jsme při kontrole po uplynutí 1 roku od léčebné terapie neprokázali.)

Zajímavější a v klinické praxi lépe aplikovatelné jsou výsledky, které byly vztaženy na počet lézí, což ukazují tabulky 5.14.-5.16. Dosažená efektivita léčby pak byla téměř 92 % při aktivaci fotosenzibilizátoru červeným světlem (tj. v metodě A), při aktivaci pulzním barvivovým laserem (tj. v metodě B) bylo dosaženo úspěšnosti dokonce necelých 96 %.

Tab. 5.14. Počet lézí s recidivou v závislosti na použité metodě

Použitá metoda	1 měsíc	6 měsíců	12 měsíců
Metoda A	5/62	2/62	5/62
Metoda B	1/66	0	3/66

Tab. 5.15. Procentuální zastoupení recidivujících lézí v závislosti na použité metodě

Použitá metoda	1 měsíc (%)	6 měsíců (%)	12 měsíců (%)
Metoda A + B (celkem recidiv)	4,7	1,6	6,3
Metoda A	8,1	3,2	8,1
Metoda B	1,5	-----	4,5

Tab. 5.16. Clearing rate (počet lézí)

Použitá metoda	Clearing rate
Metoda A	91,9%
Metoda B	95,5%

Rozdíl efektivity léčby (uvedených v %) metody A a metody B vztaženo k počtu lézí je statisticky nesignifikantní [ $\chi^2(1) = 0,676$ ;  $p = 0,411$ ].

## 5.4. PDT studie II

### 5.4.1. Materiál a metodika

#### 5.4.1.1. Charakteristika souboru pacientů

V této prospektivní studii, která proběhla v Centru fotonické medicíny Všeobecné fakultní nemocnice v Praze v roce 2011, bylo sledováno celkem 33 pacientů. Jednalo se o pacienty, u kterých se objevila nová léze bazocelulárního karcinomu (BCC), tj. léze, která nebyla dosud léčena žádnou jinou léčebnou metodou. Pacienti byli podrobně seznámeni s léčebným postupem (cíleně informování o charakteru zákroku, postupu terapie, termínech kontrol) a podepsali písemný souhlas k provedení výkonu.

Tab. 5.17. Celkový počet pacientů

Celkový počet	Pohlaví	Počet	%
33	Muži	21	63,6
	Ženy	12	36,4

Tab. 5.18. Věk pacientů

Průměrný věk	Max.- min.	Pohlaví	Průměrný věk	Max.-min.
75,5 let	20-98	Muži	74,7 let	20-98
		Ženy	76,8 let	59-90

Celkový počet pacientů, kteří podstoupili terapii BCC kombinací diodového laseru a fotodynamické terapie bylo 33, z toho bylo 21 mužů a 12 žen. Věkový průměr byl 75,5 let; u mužů 74,7 (rozmezí minimum-maximum bylo 20-98 let), u žen 76,8 (rozmezí minimum-maximum 59-90) let (viz tab. 5.17., 5.18.). U všech pacientů, kteří byli zahrnuti a sledováni v této studii, byla před fotodynamickou terapií provedena histologická verifikace. (Poznámka: Pokud nebyla provedena histologická verifikace před zahájením léčby, byla v rámci 1. fáze PDT, tj. těsně před laserovou intervencí, provedena klasická diagnostická excize nebo byl odebrán vzorek pomocí průbojníku. Takže před vlastní fotodynamickou terapií byl již výsledek histologického vyšetření k dispozici.) Celkový počet lézí BCC byl 74, z toho bylo 49 superficiálních bazocelulárních karcinomů (sBCC) a 25 nodulárních bazaliomů (nBCC) (viz tab. 5.19.). Současný výskyt sBCC i nBCC byl popsán celkem u 9 pacientů. Bazocelulární karcinomy byly nejčastěji lokalizovány na čele, nose, tváři a spánku, naopak nejméně na krku a kalvě (viz tab. 5.20.). Podle počtu jednotlivých lézí můžeme říci, že téměř v 53 % se jednalo o přítomnost pouze jediné léze BCC u pacienta, ve 21 % se jednalo o dvě léze a ve 12 % o 3 léze u pacienta, u zbylých pacientů byl výskyt BCC vícečetný (blíže viz tab. 5.21.). Zastoupení počtu pacientů, počtu lézí, lokalizace a četnosti lézí u sBCC/nBCC ukazují tabulky 5.22., 5.23., 5.24. a 5.25.

Ve studii jsme kladli největší důraz na zhodnocení úspěšnosti kombinované léčebné metody (laserová intervence aplikovaná diodovým laserem a fotodynamické terapie), tj. posouzení výskytu recidiv v přesně stanovených termínech kontrol po ukončení terapie. Dále jsme sledovali subjektivní hodnocení terapie samotnými pacienty.

Tab. 5.19. Celkový počet lézí:

Počet lézí celkem	BCC	Počet lézí	%
74	sBCC	49	66,2
	nBCC	25	33,8

Tab. 5.20. Lokalizace BCC

Lokalizace	Počet	%
Čelo	20	27,0
Nos	15	20,3
Tvář	14	18,9
Spánek	10	13,5
Ret	6	8,1
Ucho	3	4,1
Očník koutek	2	2,7
Brada	2	2,7
Kalva	1	1,35
Krk	1	1,35



Tab. 5.21. Četnost lézí BCC

Počet lézí BCC	Počet pacientů	%
1 léze	18	52,9
2 léze	7	20,6
3 léze	4	11,8
4 léze	0	0
5 lézí	2	5,9
6 lézí	2	5,9
8 lézí	1	2,9

Tab. 5.22. Počet pacientů sBCC/nBCC

Počet	BCC	Počet	Pohlaví	Počet	%
33	sBCC	23	Muži	14	60,9
			Ženy	9	39,1
	nBCC	18	Muži	13	72,2
			Ženy	5	27,8

Tab. 5.23. Celkový počet lézí sBCC/nBCC

BCC	Počet lézí	Pohlaví	Počet lézí	%
sBCC	49	Muži	24	49,0
		Ženy	25	51,0
nBCC	25	Muži	19	76,0
		Ženy	6	24,0

Tab. 5.24. Lokalizace sBCC/nBCC

Lokalizace	Počet		%	
	sBCC	nBCC	sBCC	nBCC
Čelo	14	6	28,6	24,0
Nos	8	7	16,3	28,0
Tvář	11	3	22,5	12,0
Spánek	7	3	14,3	12,0
Ret	5	1	10,2	4,0
Ucho	2	1	4,1	4,0
Očník koutek	1	1	2,0	4,0
Brada	0	2	0	8,0
Kalva	0	1	0	4,0
Krk	1	0	2,0	0

Tab. 5.25. Četnost lézí sBCC/nBCC

Počet lézí BCC	Počet pacientů		%	
	sBCC	nBCC	sBCC	nBCC
1 léze	16	13	69,6	72,2
2 léze	1	4	4,34	22,2
3 léze	1	0	4,34	0
4 léze	1	1	4,34	5,6
5 lézí	2	0	8,7	0
6 lézí	1	0	4,34	0
8 lézí	1	0	4,34	0

#### 5.4.1.2. Metodika

Klasický terapeutický protokol je obvykle zahájen skarifikací kůže v oblasti přítomnosti BCC, následuje aplikace fotosenzibilizátoru, který je po dané době inkubace aktivován pomocí světla o specifické vlnové délce, která je vhodná k právě použitému fotosenzibilizátoru.

V našem případě jsme klasický protokol modifikovali a postupovali podle námi zvoleného terapeutického plánu:

- 1. fáze: laserová intervence pomocí diodového laseru
- 2. fáze: fotodynamická terapie,
- 3. fáze: zopakování fotodynamické terapie.

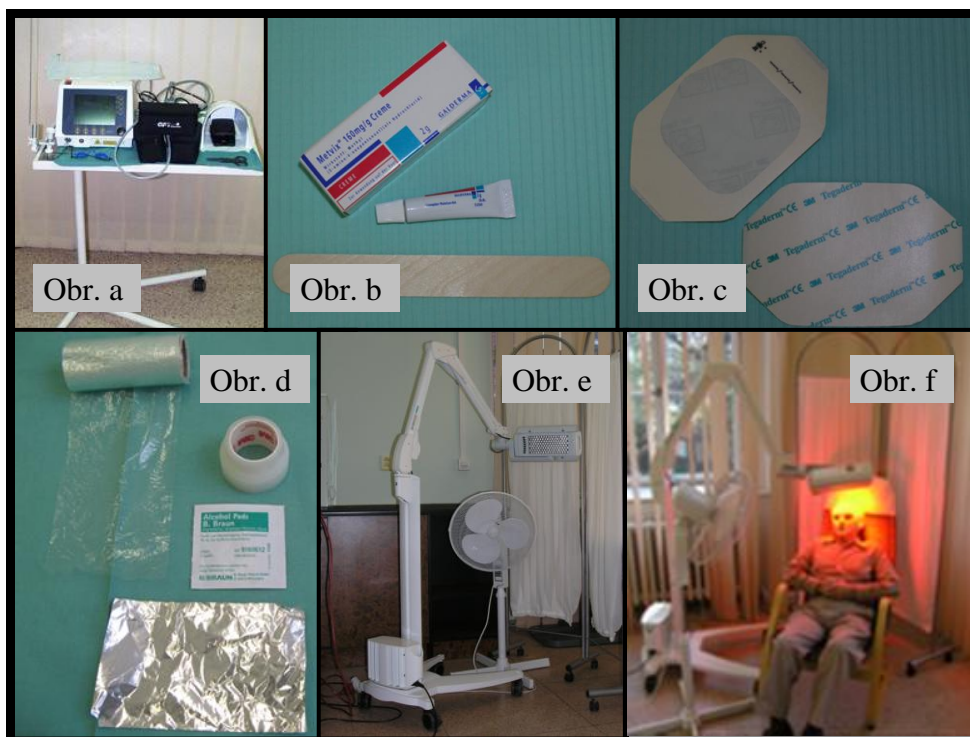
Časové odstupy mezi jednotlivými fázemi léčebného plánu jsme předem stanovili na jeden měsíc. Obr. 5.16. ukazuje vybavení pro kombinovanou terapii laser + PDT.

##### 5.4.1.2.1. Terapeutický plán - 1. fáze

Smyslem této laserové intervence bylo co nejvíce zmenšit vlastní ložisko bazocelulárního karcinomu, kdy jde především o ovlivnění tloušťky tumoru pod kritické 2 mm, abychom byli schopni zvýšit úspěšnost následné vlastní fotodynamické terapie.

Terapii jsme zahájili laserovou intervencí v lokální anestézii, tj. 4% Supracainu (Zentiva, Praha, Česká republika) nebo 3% Mepivastesinu (3M ESPE, Seefeld, Německo). Laserová intervence byla provedena pomocí diodového laseru o vlnové délce 980 nm (Cerelas D 25, CeramOptec, Bonn, Germany) s výkonem, který se pohyboval v rozmezí od 5 do 9 W, dle lokalizace BCC. Vyšší výkon jsme mohli užít při laserové vaporizaci na tváři a spánku, naopak nižší výkon jsme aplikovali při terapii na nose. Zřejmý okraj BCC jsme při laserové intervenci přesáhli minimálně o 1 mm do makroskopicky zdravé tkáně, hloubka laserové vaporizace byla čistě orientační. Po výkonu jsme ránu ponechali ke spontánnímu zhojení.

Po ošetření lézí BCC diodovým laserem nebylo nutné dodržovat žádný speciální léčebný režim. Při výskytu bolestí jsme doporučili užívat běžně dostupná analgetika. Na pacienty jsme naléhali, aby si neodstraňovali krusty, které se s odstupem času objevily v intervenované oblasti, aby si nezpůsobili krvácení, a neprodlužovali si tak hojení, které by ve výsledku mohlo ohrozit i již stanovené termíny následného léčebného plánu.



Obr. 5.16. Vybavení pro kombinovanou terapii laser + PDT: obr. a) diodový laser používaný při 1. fázi PDT, obr. b) Metvix<sup>®</sup> - fotosenzibilizátor, obr. c) a d) materiály používané k překrytí ložiska před přístupem světla v průběhu 2. fáze PDT - Tegaderm, alobal; obr. e) červené světlo - Aktelite a větrák f) aktivace fotosenzibilizátoru za kontinuálního chlazení ventilátorem.

#### 5.4.1.2.2. Terapeutický plán - 2. fáze

V této části léčebného plánu byla provedena vlastní fotodynamická terapie. Byla-li stále přítomna krusta, velmi opatrně jsme ji odstranili. Poté jsme aplikovali fotosenzibilizátor, v našem případě se jednalo o preparát Metvix<sup>®</sup> (PhotoCure, Oslo, Norsko) ve formě krému, přičemž vrstva byla tenká alespoň 1 mm a šíře vrstvy přesahovala laterální okraj ložiska o 10 mm. Celé ložisko jsme přelepili fólií Tegaderm (3M, USA). Poté jsme ložisko překryli pro světlo nepropustnou vrstvou, abychom zamezili předčasné aktivaci fotosenzibilizátoru. K tomuto účelu jsme použili nesterilní chirurgické gázové čtverce (Sunmed, China) nebo obyčejný potravinový alobal. Následovala inkubace v časovém horizontu 3 hodin (doba určená k pronikání fotosenzibilizátoru do nádorových buněk). Po uplynutí inkubační doby jsme odstranili okluzní fólii, léčenou oblast jsme očistili od zbytku masťového základu a provedli jsme aktivaci fotosenzibilizátoru červeným světlem Aktelite (PhotoCure, Dánsko), vlnová délka 632nm, dávka 42 J/cm<sup>2</sup> po dobu 8 minut za kontinuálního chlazení pomocí ventilátoru.

#### 5.4.1.2.3. Terapeutický plán - 3. fáze

V rámci této fáze léčebného plánu jsme zopakovali fotodynamickou terapii, co se týká průběhu léčby, byl naprosto identický s průběhem 2. fáze (viz výše).

#### 5.4.1.2.4. Kontroly

Všechny léze byly histopatologicky verifikovány před započítím terapie. Kontroly jsme prováděli 3, 6 a 12 měsíců po výkonu. Cílem této studie bylo zhodnotit výskyt recidiv lézí BCC (sBCC/nBCC) a vliv korekce velikosti ložiska BCC laserovou intervencí (s využitím diodového laseru) na celkovou výslednou účinnost fotodynamické terapie. Pokud se objevila recidiva již při kontrole po 1 měsíci, zopakovala se v příslušném lokusu léčebná kúra (sekundární léčebná kúra) a další kontrolní vyšetření se opětovně provedlo za 1 měsíc od sekundární léčebné kúry. V průběhu studie jsme dále kladli velký důraz na subjektivní hodnocení léčby a následného hojení samotným pacientem. K tomuto účelu nám posloužila opět již osvědčená stupnice snášenlivosti od 1 do 5, kde 1 znamenala nejlepší a 5 nejhorší snášenlivost.

### 5.4.2. Výsledky

Sledovali jsme subjektivní i objektivní hodnocení modifikované fotodynamické terapie (laser + PDT).

#### 5.4.2.1. Subjektivní hodnocení

Pacienti, kteří byli léčeni pro superficiální BCC, hodnotili kompletní léčbu na stupnici snášenlivosti jako 2,1 (2,087), viz tab. 5.26. Podle lokalizace sBCC byla nejhůře snášena léčba na nose, uchu a v očním koutku. Pacienti, kteří byli léčeni pro nodulární BCC, hodnotili léčbu na stupnici snášenlivosti jako 2,6 (2,611), blíže viz tab. 5.27. Podle lokalizace nBCC byla nejhůře snášena léčba na nose a očním koutku. Rozdíl v subjektivním hodnocení léčby superficiálních BCC a nodulárních BCC byl statisticky nesignifikantní [ $t(39) = -1,414$ ;  $p = 0,165$ ].

Tab. 5.26. Subjektivní hodnocení terapie u pacientů (sBCC)

Stupnice hodnocení metody A	Počet pacientů (X/23)
1	9
2	7
3	3
4	4
5	0

Tab. 5.27. Subjektivní hodnocení terapie u pacientů (nBCC)

Stupnice hodnocení metody B	Počet pacientů (X/18)
1	3
2	7
3	4
4	2
5	2

### 5.4.2.2. Objektivní hodnocení

Při první kontrole, tj. po uplynutí 3 měsíců od ukončení terapie, byla zjištěna pouze jedna recidiva (tj. 1,4 % z celkového počtu lézí), jednalo se o recidivu nodulárního BCC, který byl lokalizován na kalvě. U pacientů s výskytem sBCC jsme neprokázali žádnou recidivu. Rozdíl výskytu recidiv 3 měsíce po terapii sBCC a nBCC byl statisticky nesignifikantní pro t-test [ $t(72) = -1,409$ ;  $p = 0,163$ ] i pro M-W test [ $z = -1,400$ ;  $p = 0,162$ ].

Při kontrole po 6 měsících od ukončení terapie jsme neprokázali žádnou recidivu, tj. sBCC i nBCC byly bez jakékoliv recidivy. Při kontrole po 12 měsících od ukončení terapie jsme prokázali celkem 2 recidivy (tj. 2,7 % z celkového počtu lézí). Dle lokalizace se jednalo o sBCC na nose a nBCC na čele. Rozdíl výskytu recidiv 12 měsíců po terapii sBCC a nBCC byl statisticky nesignifikantní pro t-test [ $t(72) = -0,486$ ;  $p = 0,629$ ] i pro M-W test [ $z = -0,488$ ;  $p = 0,625$ ]. Počet recidiv BCC vztahených k celkovému počtu lézí ukazuje tab. 5.28. Počet recidiv BCC s ohledem na počet jednotlivých lézí (tj. sBCC/nBCC) ukazuje blíže tab. 5.29. Z těchto výsledků lze snadno dopočítat úspěšnost kombinované metody laseru s fotodynamickou terapií, tj. vyléčených lézí (jak celkovou úspěšnost metody, tak úspěšnost u jednotlivých bazaliomů, sBCC/nBCC), viz tab. 5.29. a graf. 5.3. Výsledný efekt léčby ukazují obr. 5.17. a 5.18. Rozdíl efektivity léčby (uvedených v %) superficiálních BCC a nodulárních BCC je statisticky nesignifikantní [ $\chi^2(1) = 1,511$ ;  $p = 0,219$ ].

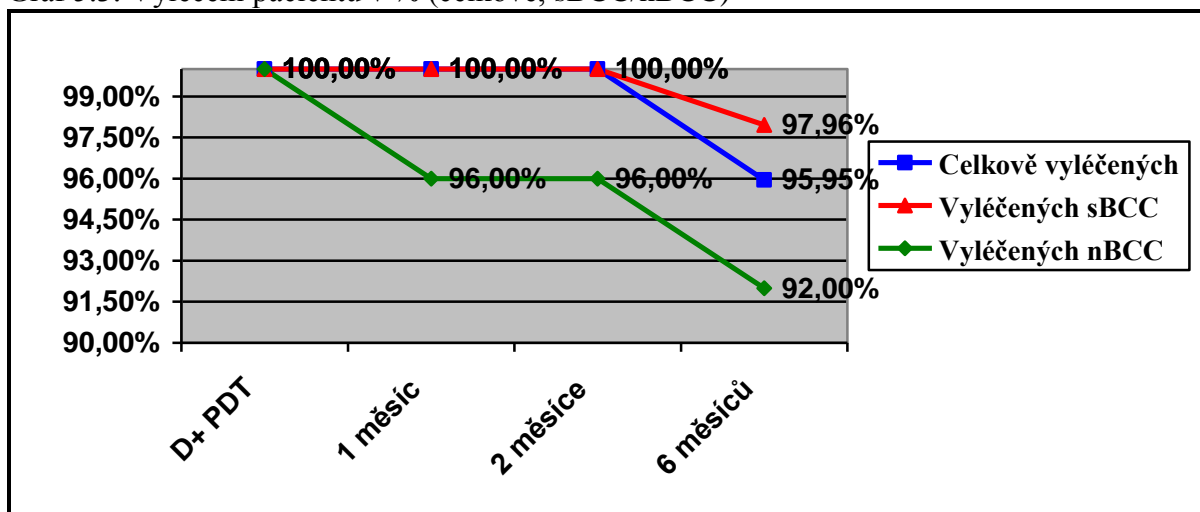
Tab. 5.28. Počet recidiv BCC (k celkovému počtu lézí)

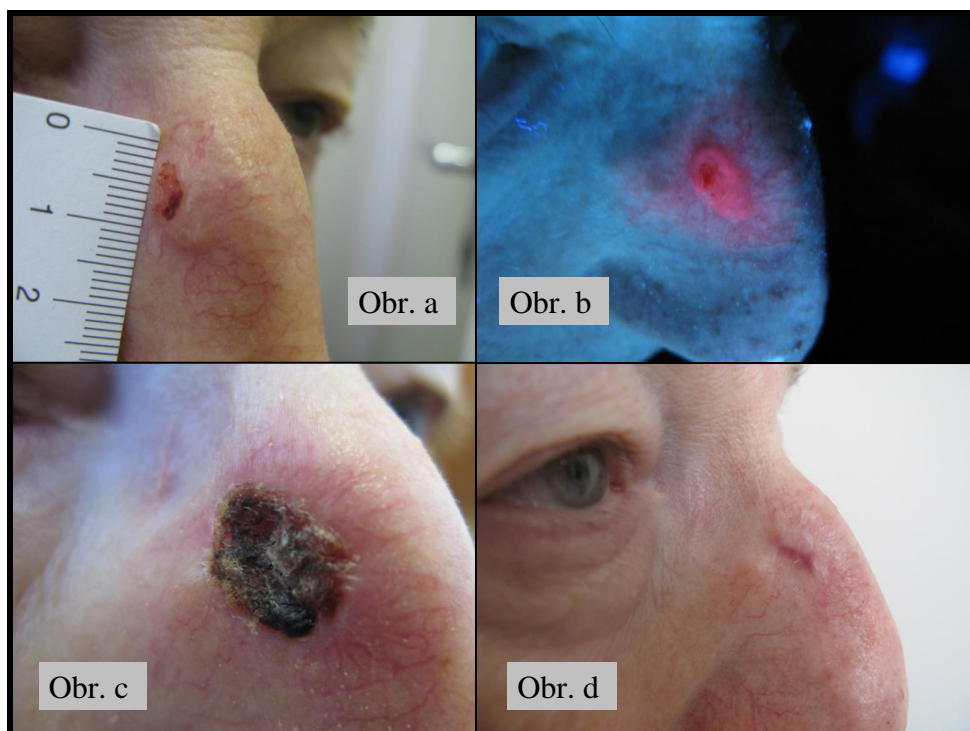
Kontrola po terapii	Počet recidiv	%	Lokalizace
3 měsíce	1	1,4	Kalva (nBCC)
6 měsíců	0	0	-----
12 měsíců	2	2,7	Nos (sBCC)
			Čelo (nBCC)

Tab. 5.29. Počet recidiv BCC (k počtu jednotlivých lézí sBCC/nBCC)

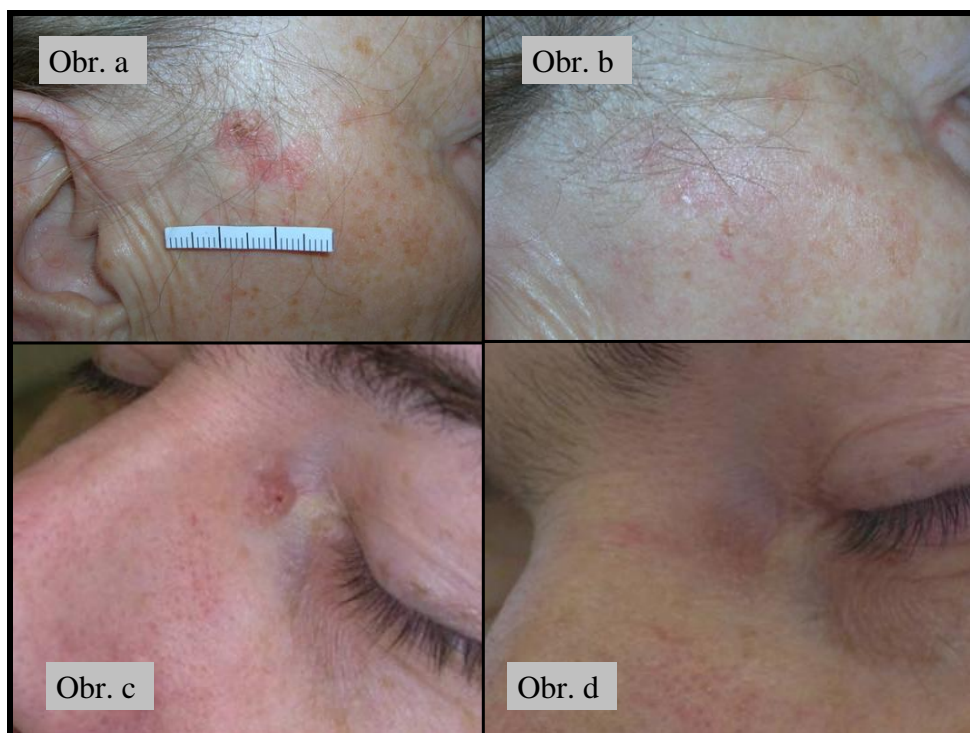
BCC	Počet recidiv	%	Úspěšně vyléčených	%
<b>Celkově</b>	3/74	4,05	71/74	95,95
<b>sBCC</b>	1/49	2,04	48/49	97,96
<b>nBCC</b>	2/25	8,00	23/25	92,00

Graf 5.3. Vyléčení pacientů v % (celkově, sBCC/nBCC)





Obr. 5.17. Fotodynamická terapie nBCC: obr. a) stav před léčbou, obr. b) fluorescence léze nBCC, obr. c) stav po laserové intervenci (za použití diodového laseru), obr. d) stav po ukončení léčby.



Obr. 5.18. Fotodynamická terapie: obr. a) a b) sBCC na tváři před terapií a po terapii, obr. c) a d) nBCC v oblasti očního koutku před a po terapii.

## 5.5. Diskuse PDT

Nevýhoda lokální fotodynamické terapie je malá hloubka průniku fotosenzibilizátoru do epitelální tkáně, udává se 1-2 mm. Proto jen povrchní léze mohou být léčeny s úspěšným terapeutickým efektem [108, 125].

Proto naším cílem bylo zvýšit účinnost topické fotodynamické terapie, kde jsme se snažili ovlivnit jak aktivaci fotosenzibilizátoru (PDT studie I), tak ovlivnit velikost (rozsah i hloubku) vlastního ložiska bazocelulárního karcinomu, tj. sBCC/nBCC (PDT studie II).

Již řadu let se v Centru fotonické medicíny snažíme při léčbě bazocelulárních karcinomů modifikovat fotodynamickou terapii tak, abychom zvýšili její účinnost i u rozsáhlejších a hlubších lézí. Vzhledem k tomu, že princip a terapeutický protokol fotodynamické terapie je všeobecně zaběhnutý, známý a vesměs neměnný, stalo se cílem našeho zájmu vlastní ložisko bazocelulárního karcinomu. Naskytla se otázka, jak ovlivnit lézi BCC, abychom zvýšili pronikání fotosenzibilizátoru do kůže a tím zlepšili efektivnost topické fotodynamické terapie. Povrch ložiska bazaliomu je z pravidla tvořen více či méně naznačenou krustou, po jejím odstranění dochází ke krvácení a rána se hojí tak, že se vytvoří krusta nová (touto formou se cyklus stále dokola opakuje). Proto naše první krůčky směřovaly k opatrnému odstranění této krusty, abychom nezpůsobili krvácení. Zpočátku jsme krustu odstraňovali pomocí exkochleační lžičky, ale občas jsme se, bohužel, mírnému krvácení nevyhnuli. Fotosenzibilizátor jsme aplikovali vždy až po zástavě krvácení. Dalo se očekávat, že přítomnost tkáňového moku a krevní sraženiny v cílové tkáni po odstranění krusty může zhoršovat penetraci fotosenzibilizátoru a tím negativně ovlivnit výsledný efekt fotodynamické terapie. Naše pozornost proto směřovala k šetrnějšímu odstranění krusty bez vzniku výrazného krvácení. Rozhodli jsme se použít některého z laserů, které máme k dispozici na našem pracovišti. Méně invazivní se nám zdála aplikace Er:YAG laseru (Skinlight, Ljubljana, Slovinsko). U tohoto typu laseru se veškerá energie zachycuje v nejpovrchnějších strukturách (1-30  $\mu\text{m}$ ), takže se skvěle uplatňuje při povrchových excizích a vaporizacích, kde řez je velmi šetrný k měkkým tkáním, nicméně nevýhodou je špatná zástava vzniknuvšího krvácení (zejména v hlubších vrstvách tkání). Pro aplikaci na povrchu kůže byla indikace tohoto laseru v našem případě téměř ideální. Ihned po použití Er:YAG laseru jsme přistoupili k vlastní fotodynamické terapii dle klasického terapeutického protokolu. Výhoda použití Er:YAG nespočívala jen v šetrném odstranění krusty, ale i v mírném zmenšení ložiska léčeného bazaliomu, čímž se zvýšila i výsledná efektivita fotodynamické terapie. Pozitivní efekt na účinnost fotodynamické terapie po aplikaci Er:YAG laseru nás inspirovalo k myšlence, že pokud ovlivníme velikost (tj. rozsah i hloubku) ložiska bazocelulárního karcinomu ještě markantněji, můžeme tím výrazněji zlepšit efekt metody (PDT). Proto jsme se tentokrát rozhodli použít invazivnější laser, než je Er:YAG, konkrétně diodový laser s vlnovou délkou 980 nm (Cerelas D 25, CeramOptec, Bonn, Německo), který navíc velmi dobře koaguluje tkáň, takže dokáže lépe zastavit i případné krvácení. Nejprve jsme se snažili pouze připravit povrch léze k fotodynamické terapii, ke které jsme z počátku přistupovali ihned po intervenci diodovým laserem. Další modifikací léčebného postupu jsme se rozhodli, že naší laserovou intervencí nebudeme jen připravovat povrch bazaliomu k PDT, ale naopak se budeme snažit již primárně co nejvíce zmenšit vlastní ložisko BCC. Tím jsme samozřejmě způsobili větší zásah nejen do rozsahu, ale i do hloubky tkáně a vlastní fotodynamickou terapii jsme odložili až po zhojení cílové oblasti. Tímto jsme v podstatě kompletně modifikovali klasický terapeutický protokol fotodynamické terapie a vytvořili vlastní léčebný plán, který jsme použili i v naší studii (PDT studie II). Studie PDT II je tak svým zaměřením a modifikací



(včetně využití diodového laseru) zcela jedinečná a dosud nebyla publikována žádná jí podobná studie.

PDT studii I poskytla srovnání účinnosti fotodynamické terapie recidivujících bazaliomů hlavy a krku modifikací aktivace fotosenzibilizátoru. Aktivací fotosenzibilizátoru pulzním barvivovým laserem bylo dosaženo vyšší účinnosti než konvenční aktivací červeným světlem. Nicméně výsledky byly stanoveny na limitovaném souboru pacientů a pro aplikaci výsledků by bylo vhodné provést verifikaci na větším souboru pacientů. Výrazný rozdíl v subjektivním vnímání obou metod (metody A i B) nebyl zaznamenán.

Výsledky dosažené v PDT studii I lze jen obtížně srovnávat s jinými studiemi, neboť jsme nepoužili originální protokol a léčili jsme recidivující bazaliomy. Podle našich výsledků však lze konstatovat, že námi dosažené účinnosti jsou nepatrně nižší než literární údaje jak pro primární sBCC (97-100 %), tak i pro primární nBCC (88-94 %) [132]. Musíme však podotknout, že v PDT studii I jsme se zaměřili striktně na porovnání úspěšnosti dvou metod založených na odlišné aktivaci fotosenzibilizátoru, nikoliv na sledování efektivity léčby u jednotlivých typů bazaliomů (tj. sBCC/nBCC). Budeme-li brát v potaz, že jsme léčili recidivující bazaliomy (tzv. „difficult to treat“ BCC), kde se předpoklady vyléčení jinými metodami pohybují v intervalu 50-80 % [103, 131, 132, 133], a že jsme prováděli jen jednu fázi fotodynamické terapie (čili bez opakování PDT v intervalu 7-10 dnů bez ohledu na efekt prvního ošetření, jak je doporučeno výrobcem v protokolu léčby), lze akceptovat i výsledky, kterých jsme docílili v této studii. Zlepšení výsledků v rámci této studie bychom pravděpodobně automaticky dosáhli již při zopakování aplikace PDT po 7 dnech dle protokolu výrobce krému Metvix® (což by na druhou stranu znamenalo taktéž automaticky zdvojnásobení ceny PDT).

V PDT studii II jsme se zaměřili na zlepšení účinnosti fotodynamické terapie u primárních bazocelulárních karcinomů (sBCC/nBCC) na základě ovlivnění velikosti ložiska nádoru (BCC) aplikací diodového laseru s vlnovou délkou 980 nm. Terapie spočívala v kombinaci terapií, tj. laserové intervence a PDT, která byla po měsíci ještě opakována (viz metodika v PDT studii II).

V subjektivním hodnocení terapie samotnými pacienty v PDT studii II jsme zaznamenali horší vnímání při léčbě nBCC než u sBCC. Tento výsledek přikládáme zejména rozdílné radikalitě laserové intervence během 1. fáze PDT, tj. u nBCC bylo zapotřebí zpravidla přikročit k rozsáhlejší laserové intervenci než u sBCC, kde jsme se mohli spokojit obvykle i s intervencí podstatně menší.

Dosažené výsledky týkající se účinnosti kombinované terapie (diodový laser a PDT) v této studii (PDT studie II) byly podstatně optimističtější jak v obecném měřítku, tj. celková účinnost terapie byla téměř 96 % (u superficiálních BCC 98 %, u nodulárních BCC 92 %), tak i při porovnání s literárními údaji charakteristickými pro primární sBCC (97-100 %) i nBCC (88-94 %) [132]. V této situaci je záhodno položit si otázku, zda výsledný terapeutický efekt přikládat na vrub spíše samotnému provedení fotodynamické terapie, kterou jsme tentokrát automaticky opakovali (časový interval mezi jednotlivými PDT byl 1 měsíc), nebo vlivu laserové intervence, která dokáže ovlivnit výsledný účinek více, než jsme si schopni sami připustit. S největší pravděpodobností se na výsledném úspěchu účinnosti kombinované PDT podílely obě léčebné varianty současně, laserová intervence prostřednictvím diodového laseru ovlivnila zejména rozsah ložiska BCC, konkrétně se zmenšila tloušťka (hloubka) nádoru v cílové oblasti do té míry, že došlo k rapidnímu omezení hlavního limitujícího parametru fotodynamické terapie, což je právě hloubka průniku aplikovaného fotosenzibilizátoru.



Druhá varianta nás zaujala natolik, že jsme pro zajímavost provedli paralelní „ministudii“, v které jsme přistoupili u 9 pacientů k terapii celkem 35 lézí superficiálních bazaliomů pouze aplikací diodového laseru (blíže viz tab. 5.30.). Dosažené výsledky našeho počínání byly velmi zajímavé. Recidivy se objevily celkem 2, první recidiva byla lokalizována na čele a objevila se 6 měsíců po terapii, druhá s lokalizací na nose se objevila za 12 měsíců po terapii. Celková úspěšnost léčby byla 94,3 % (vztaženo na počet lézí). Výsledky potvrzují, že intervence diodovým laserem u sBCC může být poměrně efektivní i bez následné fotodynamické terapie. Výsledky jsou těžko aplikovatelné do klinické praxe a v žádném případě je nelze zveličovat, protože sledování jsme konali na velmi malém souboru pacientů i lézí. K potvrzení výsledků a posouzení eventuální efektivní indikace diodového laseru v léčbě sBCC je nezbytné provést verifikaci na daleko větších souborech.

Tab. 5.30. Léčba sBCC diodovým laserem

Celkový počet	Pohlaví	Počet	%
9	Muži	6	66,7
	Ženy	3	33,3
Počet lézí sBCC			
Lokalizace		Počet	%
Kalva		13	37,1
Čelo		8	22,9
Tvář		5	14,3
Nos		4	11,4
Temporální krajina		2	5,7
Ret		2	5,7
Recidivy po terapii		5,7 %	
1 měsíc	3 měsíce	6 měsíců	12 měsíců
0	0	1	1
Úspěšnost terapie		94,3 %	

V PDT studii II jsme prokázali, že kombinovaná metoda (laser + PDT) je vysoce efektivní v terapii jak primárních sBCC, tak i nBCC. Otázkou však zůstává, zda je možné nějakým zásahem do této metody docílit ještě lepší efektivity. Druhou a třetí fází našeho léčebného plánu (tj. vlastní fotodynamickou terapii) pro svůj standardní průběh neovlivníme. První fází (tj. laserovou intervencí) můžeme ovlivnit větší radikalitou a invazivitou, tím se na jedné straně může docílit zlepšení efektivity léčby, ale na straně druhé můžeme způsobit značné zjizvení tkáně, a rapidně tak zhoršit výsledný estetický efekt léčby. Poté už můžeme jen polemizovat, zda má význam i opodstatnění indikovat fotodynamickou terapii, od které čekáme jak efektivitu, tak zároveň excelentní estetický výsledek. Jedinou alternativou, která se nabízí, je ideální naplánování a stanovení časového intervalu mezi jednotlivými fázemi. V našem případě byl časový interval stanoven z klinických zkušeností. Některé odpovědi nám poskytl i provedený experiment (viz experimentální část - hojně kůže). V rámci experimentu jsme zjistili, že při laserové intervenci diodovým laserem a použitým výkonu 7 W se průměrná doba zhojení pohybuje přibližně kolem 3 týdnů. Použijeme-li výkon 8 W a více, doba zhojení již znatelně přesahuje 3 týdny (blíže viz experimentální část této disertační práce). Tedy při nejběžněji používaných laserových výkonech, tj. 7-9 W, dosáhneme celkového zhojení do 4 týdnů od intervence. Pro stanovení časového intervalu má podstatný vliv i osobní (větší morbidita pacientů jej obecně prodlužuje) a farmakologická anamnéza

(např. antikoagulační terapie) a především věk pacientů. Zajisté by bylo ideální stanovit tyto časové intervaly pro každého pacienta zcela individuálně, ale to by bylo značně obtížné. Otázkou zůstává, zda zkrátit časové intervaly (např. na 3 týdny nebo i méně) nebo ponechat námi stanovený horizont 1 měsíce. Adekvátně zodpovědět tuto otázku bez provedení relevantní studie skutečně nelze.

Další problematickou oblastí, která značně limituje všechny léčebné modalit bazocelulárních karcinomů je špatná diagnostika skutečných hranic okrajů. Výskyt recidiv pak může pramenit právě v nedostatečném rozsahu indikované terapie. Často je velmi obtížné až nemožné okraje přesně určit. V této situaci se jeví velmi dobře diagnostika pomocí fluorescence [94, 123, 124], případně rozšířená o diagnostiku pomocí ultrazvuku [127]. Při sledování fluorescence jsme mnohdy překvapeni, jak rozsah léze BCC detekovaný fluorescencí markantně přesahuje hranici nádoru striktně viditelnou pouhým okem (výjimečně zjišťujeme přesah v hranici BCC nad 10 mm, což je vlastně bezpečnostní lem samotné fotodynamické terapie). Proto přesné stanovení hranic je nutno brát jako důležitý limitující parametr výsledné úspěšnosti fotodynamické terapie při léčbě BCC. To se netýká jen rozsahu léze v rámci plošné charakteristiky BCC, ale i hloubky léze, která je svým způsobem určující k indikaci adekvátní terapie (tj. kdy volit ještě fotodynamickou terapii a kdy již přistoupit ke klasické chirurgické intervenci). Nutno konstatovat, že nejdůležitějším faktorem ovlivňující výslednou účinnost PDT je již od počátku zahájení léčby vždy správná a oprávněná indikace fotodynamické terapie jako takové.

## 5.6. Závěr PDT

Fotodynamická terapie je uznávanou léčebnou modalitou v terapii bazocelulárních karcinomů. V žádném případě nemůže nahradit konvenční chirurgickou terapii (tj. klasickou excizi), ale bude zajisté vhodnou alternativou. Pro limitující hloubku penetrace fotosenzibilizátoru při fotodynamické terapii je indikační opodstatnění zejména v léčbě aktinické keratózy a superficiálních bazocelulárních karcinomů.

Efektivnost vlastní fotodynamické terapie lze dosáhnout ovlivněním aktivace fotosenzibilizátoru, což jsme potvrdili v PDT studii I, kde aktivace PDT pulzním barvivovým laserem poskytla na limitovaném vzorku recidivujících bazaliomů vyšší účinnost terapie než konvenční aplikace červeného světla.

Efektivnost fotodynamické terapie lze dosáhnout i modifikací vlastního terapeutického postupu, kterou jsme směřovali k ovlivnění velikosti ložiska původního BCC před vlastní fotodynamickou terapií. V PDT studii II jsme potvrdili, že pokud zmenšíme velikost bazocelulárních karcinomů, jsme schopni zvýšit výslednou účinnost následné fotodynamické terapie, a to nejen u sBCC, ale i u nBCC. Tím můžeme efektivně rozšířit indikační spektrum a uplatnění metody i v léčbě nBCC.

## 6. Experimentální část

### 6.1. Hojení kůže

#### 6.1.1. Úvod a cíle

Cílem tohoto sledování bylo zjistit časový interval hojení kůže hlavy, která byla ošetřena diodovým laserem o vlnové délce 980 nm (Cerelas D 25, CeramOptec, Bonn, Germany), v závislosti na použitém výkonu laseru a anatomické lokalizaci léčené oblasti. Výsledky samozřejmě nelze striktně aplikovat do klinické praxe, protože v průběhu sledování nebyl brán patřičný zřetel na věk pacienta, na jeho zdravotní stav a jiné indispozice, které do značné míry významně ovlivňují hojení ran. Ale i tak, toto sledování může podat poměrně zajímavou informaci o době hojení s ohledem na použitý výkon v dané anatomické lokalitě. Tyto výsledky lze dobře využít například pro přesnější naplánování terapeutického plánu při léčbě bazocelulárních karcinomů topickou fotodynamickou terapií. Jde konkrétně o naplánování časového sledu opakování cyklů jednotlivých PDT, kde zhojení léze bez přítomnosti krusty umožní lepší pronikání fotosenzibilizátoru do kůže (viz také PDT studie I a zejména PDT studie II).

Reakce a průběh hojení kůže po laserové intervenci na mikroskopické úrovni nebylo cílem našeho zájmu. Nás zajímalo pouze makroskopické hledisko, které lze dobře objektivně zhodnotit samotnými pacienty, tj. po laserové intervenci diodovým laserem se na kůži dříve či později objeví krusta. Ta se v průběhu nekomplikovaného hojení postupně vysouší, odlučuje a objevuje se nová, menší. Tímto mechanismem se postupně vyhojuje celá léze, až se nakonec krusta zcela uvolní a nová se již neobjeví. Zajímalo nás časový interval (tj. počet dnů) od laserové intervence do doby, kdy se uvolní poslední krusta a rána zůstane již bez její přítomnosti.

#### 6.1.2. Metodika

Nejprve jsme zvolili cílovou skupinu tohoto experimentu. Jednalo se o náhodný výběr pacientů, kteří přicházeli do Centra fotonické medicíny Všeobecné fakultní nemocnice v Praze na terapii bazocelulárních karcinomů (experiment probíhal bez ohledu na typ jednotlivých bazaliomů), kde se plánovalo zahájení léčby laserovou intervencí, tj. laserovou vaporizací ložiska BCC. Nejdůležitějším parametrem v experimentu byla ochota samotného pacienta sledovat a zaznamenat časový interval hojení. Celkový soubor čítal 98 pacientů, (lokalizace a počet pacientů ukazuje tab. 6.1.).

Tab. 6.1. Počet pacientů dle lokalizace BCC

Lokalizace	Celkový počet	Počet	%
Nos	98	34	34,7
Tvář + ret		28	28,6
Čelo		18	18,4
Temporální krajina		8	8,1
Kalva		6	6,1
Ucho (boltec)		4	4,1

Vlastní výkon:

V lokální anestézii byla provedena laserová vaporizace ložiska bazaliomu hlavy diodovým laserem v kontinuálním režimu, zaznamenán byl i použitý výkon. Pacienti byli požádáni, aby pečlivě sledovali léčenou oblast. Byli podrobně informováni o průběhu hojení (bylo jim zdůrazněno, že po terapii se v místě působení diodového laseru objeví krusta, kterou nebudou odstraňovat i proto, že by si tímto počinem mohli způsobit krvácení a prodloužit hojení). Nakonec byli osloveni, aby zaznamenali časový interval zhojení, tedy aby stanovili počet dnů od terapie po uvolnění poslední krusty.

Tab. 6.2. Bazocelulární karcinomy s lokalizací na nose

Pohlaví	Výkon laseru	Hojení (dny)	Věk pacienta
žena	4 W	15	46 let
žena	4 W	17	46 let
žena	4 W	7	75 let
muž	4 W	12	71 let
žena	4 W	15	49 let
žena	4 W	14	71 let
muž	4 W	10	54 let
žena	5 W	14	64 let
žena	5 W	10	61 let
žena	5 W	14	63 let
žena	5 W	13	66 let
muž	5 W	18	75 let
muž	5 W	12	53 let
žena	5 W	12	50 let
žena	6 W	21	72 let
žena	6 W	10	71 let
žena	6 W	18	57 let
žena	6 W	14	69 let
muž	6 W	14	63 let
žena	6 W	19	77 let
žena	6 W	20	65 let
muž	6 W	15	74 let
muž	6 W	14	58 let
žena	6 W	13	55 let
žena	7 W	14	61 let
žena	7 W	14	58 let
žena	7 W	21	67 let
žena	7 W	28	64 let
muž	7 W	24	74 let
muž	7 W	20	53 let
muž	7 W	16	52 let
žena	8 W	24	73 let
žena	8 W	23	47 let
žena	8 W	26	64 let

### 6.1.3. Výsledky

Výsledky detailně zobrazují tabulky 6.2.-6.7. (výsledná doba hojení po laserové intervenci diodovým laserem s ohledem na pohlaví, věk pacienta a zejména použitý laserový výkon).

Tab. 6.3. BCC s lokalizací na tváři a rtech

Pohlaví	Výkon laseru	Hojení (dny)	Věk pacienta
muž	5 W	10	80 let
žena	5 W	15	81 let
žena	5 W	12	60 let
žena	6 W	15	61 let
muž	6 W	14	84 let
žena	6 W	21	63 let
muž	6 W	14	59 let
žena	6 W	19	64 let
muž	6 W	17	52 let
muž	6 W	16	64 let
muž	7 W	28	77 let
žena	7 W	24	68 let
muž	7 W	20	81 let
žena	7 W	28	60 let
žena	7 W	18	82 let
muž	7 W	22	69 let
žena	7 W	20	57 let
žena	7 W	27	53 let
muž	7 W	24	81 let
muž	7 W	22	63 let
žena	7 W	26	59 let
žena	8 W	10	65 let
žena	8 W	21	81 let
muž	8 W	30	64 let
muž	8 W	24	54 let
muž	8 W	26	71 let
muž	9 W	22	63 let
muž	9 W	35	53 let

Jak ukazuje souhrnná tabulka 6.8., s rostoucím použitým výkonem laseru se prodlužuje i doba zhojení léčeného ložiska. Již při použití výkonu 7 W se průměrná doba zhojení pohybuje přibližně 3 týdny. Použijeme-li výkon 8 W a více, doba zhojení již znatelně přesahuje 3 týdny. Naopak při aplikaci výkonu pod 6 W se ložisko zhojilo za méně než 2 týdny. Při výkonu 6 W se ložisko zhojilo průměrně za 17 dní.

Tab. 6.4. Bazocelulární karcinomy s lokalizací na čele

Pohlaví	Výkon laseru	Hojení (dny)	Věk pacienta
žena	5 W	21	61 let
muž	5 W	11	55 let
muž	5 W	14	51 let
žena	5 W	13	57 let
muž	6 W	10	54 let
žena	6 W	12	76 let
muž	6 W	13	57 let
muž	7 W	21	77 let
muž	7 W	20	75 let
žena	7 W	19	79 let
muž	7 W	18	72 let
žena	7 W	24	62 let
žena	7 W	23	68 let
muž	7 W	20	63 let
muž	8 W	21	57 let
muž	8 W	28	81 let
žena	9 W	28	84 let
muž	9 W	31	80 let

Tab. 6.5. BCC s lokalizací v temporální krajině

Pohlaví	Výkon laseru	Hojení (dny)	Věk pacienta
žena	6 W	14	73 let
žena	6 W	17	69 let
žena	6 W	16	61 let
muž	7 W	21	77 let
muž	7 W	21	64 let
muž	7 W	20	62 let
žena	8 W	23	57 let
žena	9 W	30	64 let

Tab.6.6. Bazocelulární karcinomy s lokalizací na kalvě:

Pohlaví	Výkon laseru	Hojení (dny)	Věk pacienta
muž	7 W	20	75 let
muž	7 W	23	74 let
muž	7 W	24	79 let
muž	8 W	28	81 let
muž	8 W	26	69 let
muž	9 W	35	81 let

Tab. 6.7. Bazocelulární karcinomy s lokalizací na boltci

Pohlaví	Výkon laseru	Hojení (dny)	Věk pacienta
muž	6 W	24	61 let
žena	6 W	18	75 let
muž	7 W	24	61 let
žena	7 W	17	61 let

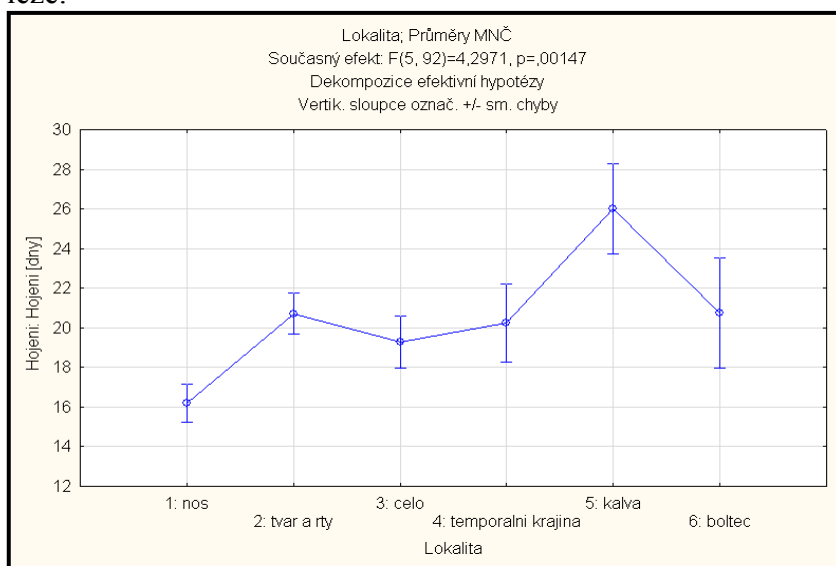
Tab. 6.8. Souhrny, průměrné hodnoty v hojení (ve dnech):

	Nos	Tvář, rty	Čelo	Temporální krajina	Kalva	Ostatní (boltec)	Celkový průměr	s
<b>4 W</b>	12,86	-----	-----	-----	-----	-----	12,86	3,18
<b>5 W</b>	13,29	12,33	14,75	-----	-----	-----	13,5	2,9
<b>6 W</b>	15,8	16,57	11,67	15,67	-----	21,0	15,92	3,41
<b>7 W</b>	19,57	23,55	20,71	20,67	22,33	20,5	21,55	3,61
<b>8 W</b>	24,33	22,2	24,5	23,0	27,0	-----	23,85	4,77
<b>9 W</b>	-----	28,5	29,5	30,0	35,0	-----	30,17	4,45

s (směrodatná odchylka)

Tabulka 6.9. a graf 6.1. dokumentují statistické rozdíly doby hojení lézí po laserové intervenci v závislosti na anatomické lokalizaci dané léze. Dle výsledků je patrné, že rozdíly doby hojení v anatomických lokalizacích lézí kalva/nos, kalva/tvář a rty, kalva/čelo byly statisticky signifikantní. Rozdíly doby hojení v anatomických lokalizacích lézí nos/tváře a rty byly taktéž statisticky signifikantní.

Graf. 6.1. Statistické zhodnocení rozdílů doby hojení v závislosti na anatomické lokalizaci léze:



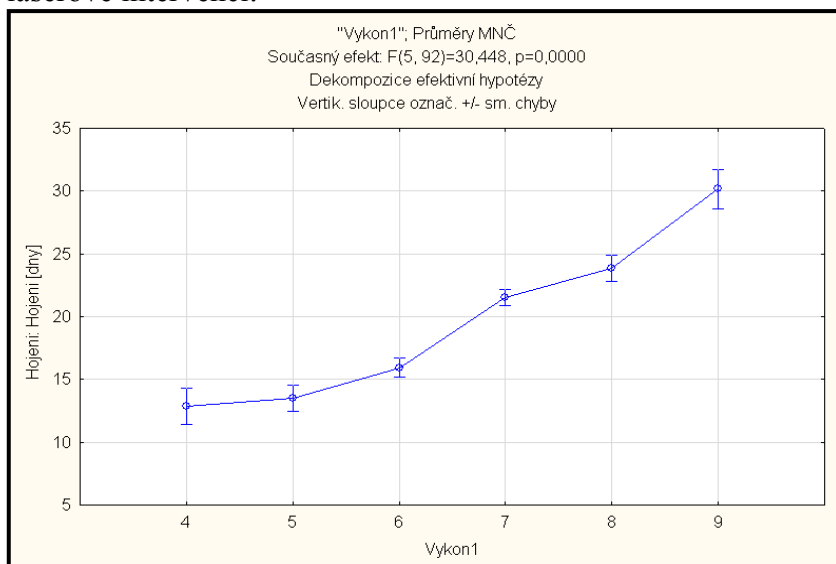
Tab. 6.9. Statistické zhodnocení rozdílů doby hojení v závislosti na anatomické lokalizaci léze:

Lokalita	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}
	16,206	20,714	19,278	20,25	26	20,75
<b>1</b>		0,002	0,061	0,068	0,000	0,126
<b>2</b>	0,002		0,395	0,836	0,037	0,990
<b>3</b>	0,061	0,395		0,682	0,012	0,633
<b>4</b>	0,068	0,836	0,682		0,059	0,884
<b>5</b>	0,000	0,037	0,012	0,059		0,147
<b>6</b>	0,126	0,990	0,633	0,884	0,147	

Legenda: 1 - nos, 2 - tvář a rty, 3 - čelo, 4 - temporální krajina, 5 - kalva, 6 - boltec.

Tabulka 6.10. a graf 6.2. dokumentují statistické rozdíly doby hojení lézí při laserové intervenci v závislosti na použitém výkonu. Dle výsledků je patrné, že rozdíly doby hojení lézí byly významně statisticky signifikantní při srovnání laserových výkonů do 5 W (tj. 4, 5 a 6 W) s výkony 7 a více W (tj. 7, 8 a 9 W); rozdíly doby hojení lézí byly taktéž významně statisticky signifikantní při srovnání laserových výkonů 8 a 9 W, 7 a 9 W.

Graf 6.2. Statistické zhodnocení rozdílů doby hojení lézí v závislosti na použitém výkonu při laserové intervenci:



Tab. 6.10. Statistické zhodnocení rozdílů doby hojení lézí v závislosti na použitém výkonu při laserové intervenci:

Výkon	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}
	12,857	13,500	15,920	21,545	23,846	30,167
1		0,715	0,062	0,000	0,000	0,000
2	0,715		0,059	0,000	0,000	0,000
3	0,062	0,059		0,000	0,000	0,000
4	0,000	0,000	0,000		0,067	0,000
5	0,000	0,000	0,000	0,067		0,001
6	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	

Legenda: 1: výkon 4 W, 2: výkon 5 W, 3: výkon 6 W, 4: výkon 7 W, 5: výkon 8 W, 6: výkon 9 W.

#### 6.1.4. Závěr

Souhrnné výsledky jsou velmi zajímavé a s jistou obezřetností eventuálně využitelné i v klinické praxi. S ohledem na interval zhojení ložisek na hlavě po laserovém ošetření můžeme lépe stanovit termíny kontrol. Významný přínos do klinické praxe vidíme zejména v tom, že zjištěné výsledky doby hojení mohou být velmi prospěšné k přesnějšímu naplánování dalších cyklů terapie, které navazují na laserovou intervenci, např. při



kombinované fotodynamické terapii (dioda + PDT, blíže viz PDT studie II) v léčbě bazocelulárních karcinomů.

## **6.2. Experiment: reakce tkáně na působení laseru (výkon laseru/čas působení laseru)**

### **6.2.1. Úvod a cíle**

Cílem tohoto experimentu bylo popsat na mikroskopické úrovni charakteristiku působení laser/tkáně v závislosti na časové aplikaci laserové intervence. Jinými slovy zajímalo nás, jakým způsobem bude reagovat a k jakým změnám dojde ve tkáni po působení laseru. Cílem našeho zájmu bylo zjistit, do jaké hloubky od povrchu (tedy od bodu, kde došlo ke kontaktu konce laserového vlákna s tkání) bude přítomno termické poškození cílové tkáně v závislosti na použitém výkonu a době působení laseru. Naše další pozornost směřovala k zjištění, kdy bude popisována koagulace vaziva a kdy naopak dojde k ovlivnění tkáně již charakteru termického defektu.

### **6.2.2. Metodika**

#### **6.2.2.1. Experimentální vzorek**

Vlastní experiment probíhal v souladu s etickými normami (schváleno etickou komisí pod záštitou výzkumného grantu: 2005-2007; Kombinace výkonných laserů a fotodynamické terapie v terapii novotvarů hlavy a krku, IGA MZ 8390-3).

Pro lepší aplikaci dosažených výsledků do klinické praxe byla k experimentálnímu účelu využita lidská tkáň, nikoliv tkáň odebraná z pokusných zvířat. Jako experimentální vzorek (materiál) posloužila tkáň (kůže a podkoží) z oblasti břicha, která byla odebrána osobě ženského pohlaví při plastické operaci - abdominoplastice. (Poznámka: Tato přebytečná tkáň, která byla odstraněna při abdominoplastice, by i tak byla po výkonu zničena a zlikvidována dle zákona o Zacházení s biologickým odpadem.) Pacientka, od níž byla tkáň k našemu experimentu použita, byla předem podrobně informována, k jakému účelu bude tkáň dále využita. Současně byla pacientka ujištěna, že veškerá biologická tkáň (včetně histologických preparátů) bude po ukončení experimentu zcela odstraněna a zlikvidována dle běžných zvyklostí podle zákona a směrnic VFN (Směrnice SM-VFN-27, Nakládání s odpady). Po podrobném seznámení s naším záměrem dala pacientka písemný souhlas k odebrání a poskytnutí tkáně k experimentálnímu účelu. (Poznámka: Jedinou podmínkou pacientky bylo nepořizovat z průběhu experimentu jakýkoliv záznam, tedy bohužel ani fotografický. Ač neradi, podmínku pacientky jsme samozřejmě respektovali a také splnili).

#### **6.2.2.2. Příprava vzorků**

Než jsme zahájili vlastní experimentální fázi, museli jsme nejprve připravit vzorky tak, aby vyhovovaly našim pokusným účelům. Bylo stanoveno, že k experimentu bude

zapotřebí 10 identických vzorků tkáně (s ohledem na stanovený výkon/čas laserové aplikace). Nejprve bylo připraveno celkem 10 vzorků shodné velikosti tak, aby na povrchu každého experimentálního vzorku byl zcela neporušený kožní kryt. Jednalo se přímo o bloky kůže velikosti 10x10x50 mm, kde kožní kryt zaujímal tvar čtverce o velikosti hrany 10 mm. Na stěně jednotlivých bloků, kde byl přítomen kožní kryt, se přesně stanovilo a označilo i aplikační místo, tj. bod kontaktu konce laserového vlákna s tkání, které bylo určeno průsečíky úhlopříček stěny 10x10 mm. Výše popsaným způsobem bylo docíleno přípravy 10 naprosto identických vzorků, které dostatečně posloužily k našemu experimentu.

### 6.2.2.3. Experimentální fáze

K vlastnímu experimentu jsme použili 10 identicky připravených vzorků. K laserové intervenci nám posloužil diodový laser o vlnové délce 980 nm (Cerelas D 25, CeramOptec, Bonn, Germany). Vzorky jsme nejprve rozdělili do 2 skupin. V první skupině vzorků jsme působili diodovým laserem po konstantní čas, tj. 5 sekund, a měnili jsme pouze výkon, konkrétně jsme výkon postupně navyšovali o 5 W (tj. hodnoty laserového výkonu byly 5, 10, 15, 20 a 25 wattů). Ve druhé skupině jsme zvolili jako neměnnou hodnotu naopak výkon laseru, který jsme stanovili na hodnotu 10 W, a měnili jsme časový interval působení laseru, prodlužovali jsme tak záměrně dobu laserové aplikace vždy o 5 sekund (tj. doba působení laseru byla 10, 15, 20, 25 a 30 sekund). Přehledně charakteristiku laserového působení výkon/čas ukazuje tab. 6.11.

Tab. 6.11. Experimentální vzorky

VZOREK	VÝKON (W)	ČAS (s)
1	5	5
2	10	5
3	15	5
4	20	5
5	25	5
6	10	10
7	10	15
8	10	20
9	10	25
10	10	30

### 6.2.2.4. Zpracování vzorků

Vzorky byly ihned po dokončení laserové aplikace fixovány do roztoku formolu (roztok 10% formaldehydu) a odeslány k dalšímu zpracování, tj. k histologickému vyšetření, které prováděl zkušený dermatohistolog. Vzorky byly nejprve zalévány (zhotoveny parafínové bloky), poté byly prokrájeny (nejprve přikrojeny v centru makroskopického defektu a následně prokrojeny, nešlo tedy o sériové prokrájení celého materiálu), obarveny (použito barvení hematoxylin + eozin) a na závěr byly výsledky odečteny mikroskopicky.

### 6.2.3. Výsledky

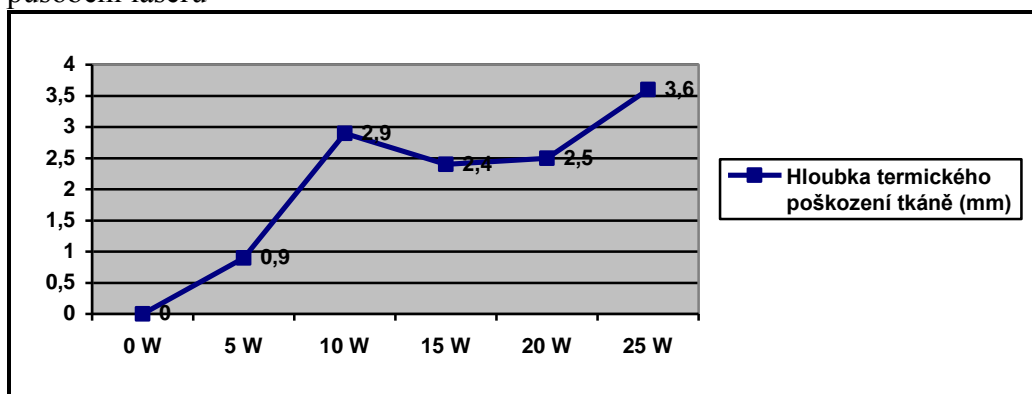
Sumarizace výsledků získaných při histologickém vyšetření dermatohistologem ukazuje podrobně tabulka 6.12., graf 6.3. a 6.4.

Graf. 6.3. ukazuje závislost hloubky termického poškození na použitém laserovém výkonu. Test statistické významnosti linearitu trendu závislosti hloubky termického poškození na výkonu je statisticky nesignifikantní ( $p = 0,106$ ). Graf. 6.4. ukazuje závislost hloubky termického poškození na čase. Test statistické významnosti linearitu trendu závislosti hloubky termického poškození na čase je hraničně statisticky signifikantní ( $p = 0,049$ ).

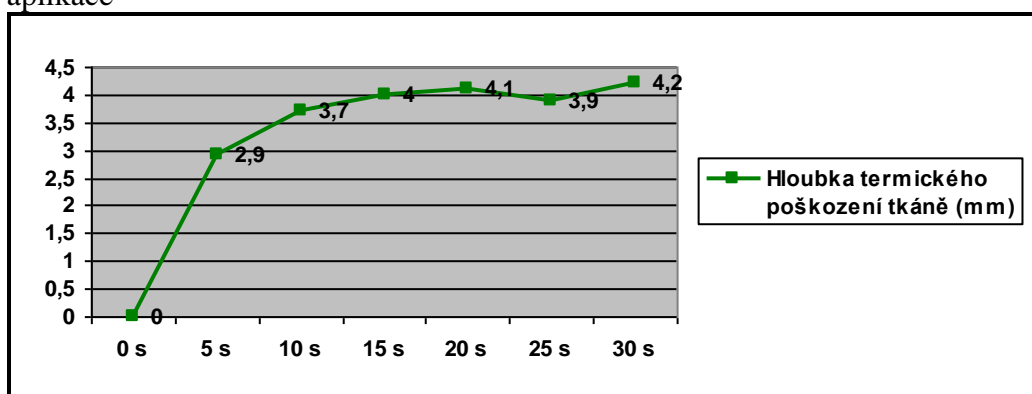
Tab. 6.12. Výsledky experimentu

VZOREK	VÝKON (W)	ČAS (s)	HLOUBKA TERMICKÉHO POŠKOZENÍ (mm)	POZNÁMKA
1	5	5	0,9	koagulace vaziva
2	10	5	2,9	koagulace vaziva
3	15	5	2,4	termický defekt
4	20	5	2,5	termický defekt
5	25	5	3,6	termický defekt
6	10	10	3,7	termický defekt
7	10	15	4,0	termický defekt
8	10	20	4,1	termický defekt
9	10	25	3,9	termický defekt
10	10	30	4,2	termický defekt

Graf. 6.3. Ukazuje hloubku termického poškození tkáně při konstantním časovém intervalu působení laseru



Graf. 6.4. Ukazuje hloubku termického poškození tkáně při konstantním výkonu laserové aplikace



#### 6.2.4. Závěr a klinické využití

V chirurgii hlavy a krku se klade velký důraz na výsledný estetický efekt léčby, ať už je výkon prováděn klasickým chirurgickým postupem (tj. chirurgickou excizí skalpelem s následnou suturou rány), nebo například laserovou intervencí. Příčinou tohoto citlivého chápání estetiky může být i jistá intimita vnímání vlastního obličeje, počínaje prvním očním kontaktem mezi lidmi, přes vlivy společenského uplatnění, zaměstnání a konče hodnocením celkového vzhledu osoby ostatními jedinci.

Stejně jako u jakékoliv jiné chirurgické léčby, tak i u laserové intervence je pro celkový úspěšný léčebný efekt důležité, aby byl zvolen adekvátní rozsah terapie v cílové oblasti. To v sobě zahrnuje dva důležité aspekty, jednak správně zvolit hranici požadované intervence s bezpečnostním lemem, který je dostatečně vzdálený od okraje léze, která má být odstraněna, jednak zvolit i správnou hloubku terapie, tj. aby léčebnou intervencí byla dostatečně zabrána i spodina cílové léze.

Je-li v terapii indikován laser, všeobecně se očekává, že kromě požadovaného léčebného efektu bude bezesporu výrazný i efekt estetický. Dosáhnout těchto obou efektů současně je někdy velmi obtížné.

Proto je nesmírně důležité znát interakční mechanismus vzájemného působení laser/tkáň. Při malém laserovém výkonu můžeme zlepšit estetický efekt, ale výsledný terapeutický efekt může být nedostatečný (výskyt recidiv). Nebo naopak při vysokém laserovém výkonu můžeme zajistit požadovaný terapeutický efekt, ale estetický efekt může být špatný (značné zjizvení tkáně). Nicméně primárním cílem každé léčby je především terapeutický efekt, estetický výsledek, ač je pro pacienta nesmírně důležitý, bereme jako nadstavbu. Samozřejmě se snažíme docílit i dobrého estetického efektu, ale ovšem nikdy ne na úkor výsledného terapeutického efektu.

Výsledek proběhlého experimentu ukazuje hloubku termického poškození po aplikaci diodového laseru. Avšak výsledky je nutno brát s dostatečnou rezervou, neboť vycházejí z velmi malého souboru vzorků. Ale i tak nám mohou poskytnout zevrubnou orientaci, jaký

výkon použit (event. po jaký časový interval aplikovat laserovou intervenci určitého výkonu) a jaký termický efekt na tkáň můžeme očekávat.

Indikace použití určitého výkonu bude ovlivňovat zejména diagnóza (sBCC/nBCC), ale i lokalizace dané léze, tj. jiný laserový výkon budeme aplikovat při terapii na tváři, bradě, s úplně jiným výkonem budeme pracovat při ošetření lézí na kalvě a nose. Anatomická lokalizace je určena tloušťkou kůže a podkožního vaziva. V oblasti kalvy, kde je u starších pacientů (zejména mužského pohlaví s plešatostí) kůže velmi tenká a gracilní, není ideální aplikovat vyšší hodnoty laserového výkon, neboť je zde riziko, že může dojít k obnažení kosti a tím k výraznému zhoršení následného hojení. V horším případě, použije-li se nadměrně vysoký výkon, může dojít až k porušení periostu. Tím vzniká nepříjemná komplikace, kdy nemusí vůbec dojít ke zhojení rány a pak zůstane kost obnažena. Podobná problematika nastává při terapii lézí na uchu a nose, kde hrozí riziko obnažení chrupavky. Situace na nose je o to komplikovanější, protože tato lokalizace je na jedné straně velmi citlivě vnímána samotnými pacienty, na druhé straně je to místo s častým výskytem BCC s horší prognózou (bráno jako rizikovější oblast možného vzniku recidiv) [131]. Při neadekvátně vysokém laserovém výkonu můžeme na nose způsobit vznik výrazných vpáčených jizev. Pak je vhodné si položit otázku, zda laserová intervence s tímto výsledkem léčby je ještě kosmetická oproti klasické chirurgické excizi. Naopak při laserové intervenci v lokalizacích, kde je dostatek kůže a podkoží (jako je například na čele a tváři), lze použít i vyšší laserový výkon a rány se hojí ve většině případů velmi dobře a jizvení je naprosto minimální (nebo žádné), což potvrzují i naše dlouholeté zkušenosti.

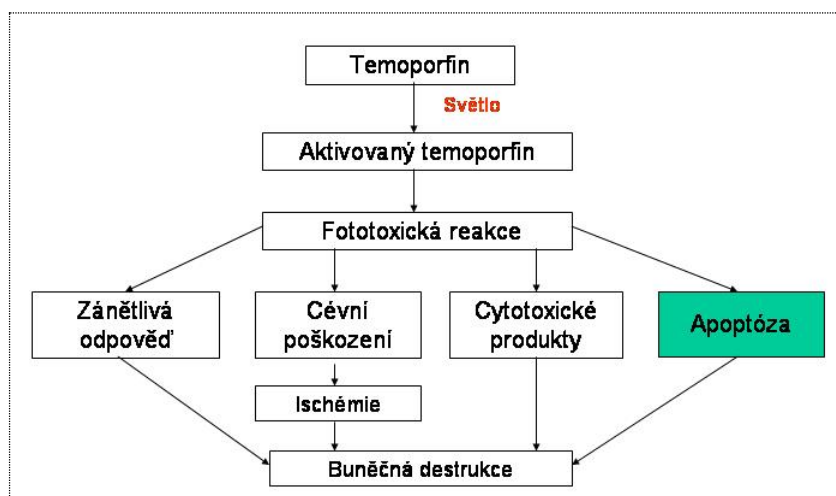
V našem experimentu jsme pracovali s velmi malým souborem vzorků. Námi zjištěné výsledky (hloubka termického poškození po laserové aplikaci) tak mohou sloužit spíše jako orientační hodnoty. Proto pro lepší přehlednost a získání přesnějších výsledků, které budou moci být poté i lépe klinicky využitelné, je nutné, aby se experiment provedl na daleko početnějším souboru vzorků. Tím se naskytne i větší příležitost vyzkoušet více alternativ (tj. konstantní hodnoty různých laserových výkonů se změnou časového intervalu působení laseru nebo naopak konstantní doby působení laseru s proměnnými hodnotami použitých výkonů).

## 7. Kazuistiky iPDT

### 7.1. Úvod

Jako první pracoviště v České republice (Centrum fotonické medicíny a Stomatologická klinika Všeobecné fakultní nemocnice v Praze) jsme zavedli a do klinické praxe aplikovali systémovou fotodynamickou terapii za použití fotosenzibilizátoru Foscan<sup>®</sup> (Biolitec Pharma, Dublin, Irsko).

Mechanismus působení systémové fotodynamické terapie ukazuje obr. 7.1. (bližší viz obecná část iPDT, kapitola 5.1.7.).



Obr. 7.1. Mechanismus působení fotodynamické terapie.

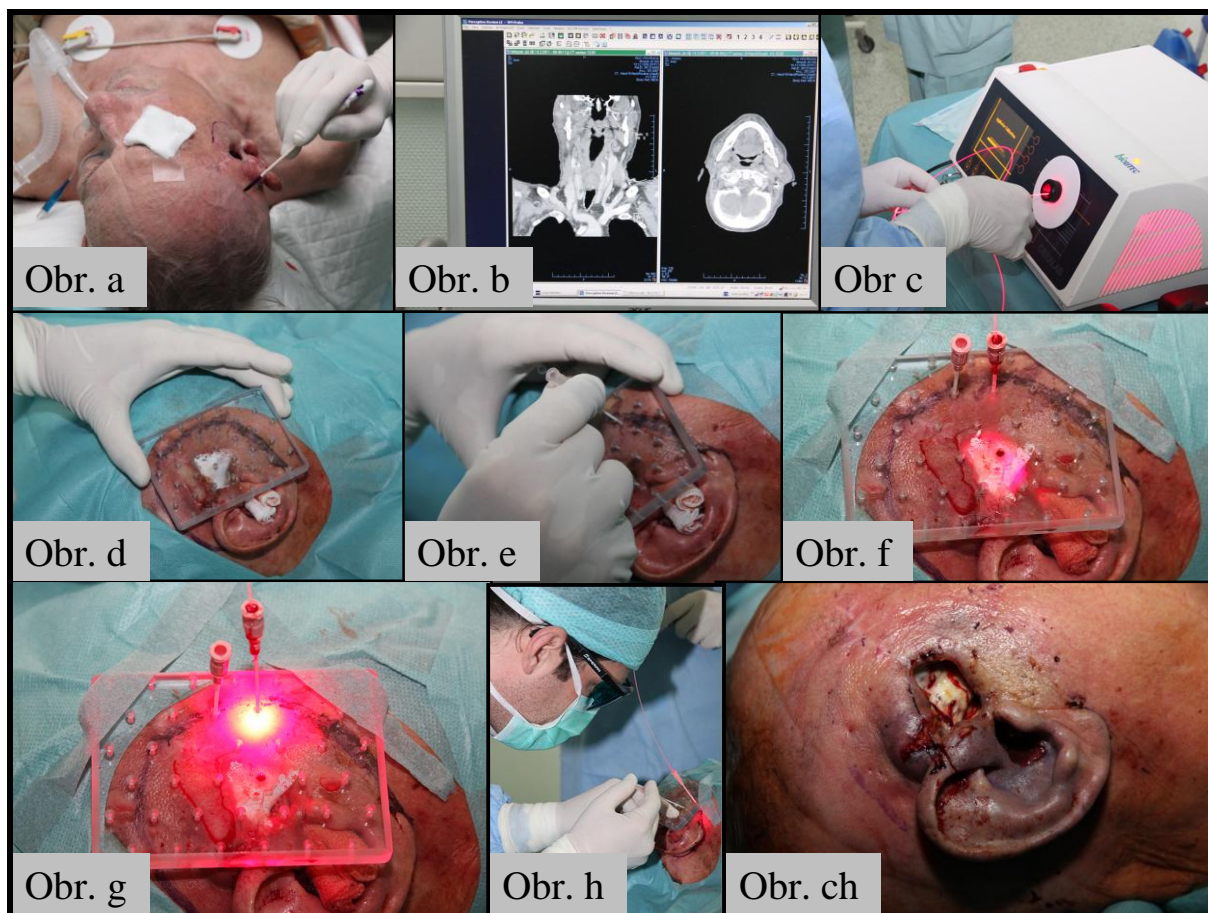
Foscan<sup>®</sup> byl schválen Státním úřadem pro kontrolu léčiv (ČR) k indikaci pro paliativní léčbu pacientů s pokročilým nádorovým onemocněním hlavy a krku, u kterých selhaly předchozí způsoby léčby nebo kteří nejsou vhodní pro radioterapii, chirurgický zákrok či systémovou chemoterapii.

### 7.2. Indikace

Před vlastním výkonem je důležité provést správnou indikaci vhodného pacienta k provedení systémové fotodynamické terapie (v našem případě indikaci provedl multidisciplinární tým v rámci onkologického poradny). Ve 3 ze 4 případů se jednalo o pacienty s pokročilým onkologickým onemocněním hlavy a krku, u kterých selhaly veškeré možné předchozí terapie a kteří byli indikováni k symptomatické terapii. V jednom případě (pacient č. 4) se jednalo o pacienta, který odmítl vhodnější chirurgický výkon. Před výkonem bylo provedeno u všech pacientů CT vyšetření hlavy, ultrazvuk krku a RTG S+P a detailně naplánován rozsah výkonu.

### 7.3. Materiály a metodika

Foscan<sup>®</sup> se podává intravenózně zavedenou kanylou do velké žíly horní končetiny (přednostně do antekubitální fosy), a to pomalou injekcí trvající nejlépe 6 minut. Po ukončení aplikace Foscanu<sup>®</sup> se zavedená kanyla odstraňuje, proto je s výhodou mít již před zahájením vlastní aplikace zajištěn ještě jeden periferní vstup pro případ výskytu komplikací. Důležité je zabránit mimožilnímu podání. Dávka Foscanu<sup>®</sup> je vztažena k tělesné hmotnosti (0,15 mg/kg). Následuje inkubační doba, což je časový interval, který zaujímá 96 hodin od podání Foscanu. Poté přistupujeme (v časovém horizontu 90-110 hodin) k osvětlení cílového nádoru světlem s vlnovou délkou 652 nm ze schváleného laserového zdroje, laser Cerelas PDT 652 nm (CeramOptec, Bonn, Německo). Dopadající světelná dávka je 20 J/cm<sup>2</sup> dodávaná při světelném příkonu 100 mW/cm<sup>2</sup> na povrch tumoru s dobou procedury 200s. Detailněji postup terapie ukazuje obrázek 7.2.



Obr. 7.2. Průběh systémové fotodynamické terapie; obr. a) zakreslení rozsahu výkonu, obr. b) zobrazení CT, obr. c) kalibrace laserového přístroje, obr. d) přiložení prefabrikované destičky s otvory ve vzdálenosti 1 cm, obr. e) zavedení jehly do nádoru, obr. f) instalace laserového vlákna do již zavedené jehly - osvětlení tumoru více v hloubce, obr. g) osvětlení tumoru povrchněji, obr. h) postupné osvětlení naplánovaného rozsahu tumoru, obr. ch) stav ihned po ukončení výkonu.



## 7.4. Fotosenzitivita pacientů

Všichni pacienti, kteří jsou léčeni systémovou fotodynamickou terapií přípravkem Foscan<sup>®</sup>, budou po podání přípravku fotosenzitivní. Důsledkem tohoto rizika je po podání injekce fotosenzibilizátoru povinností každého pacienta důsledně dodržovat speciální léčebný režim (tj. ochrana před světlem zatemněním). Opatření jsou zaměřena k tomu, aby se předešlo expozici kůže a očí přímému slunečnímu světlu nebo zářivému vnitřnímu osvětlení v místnosti v průběhu prvních 15 dnů po aplikaci Foscanu<sup>®</sup>. V našem případě jsme pro pacienty podstupující iPDT zřídili speciální pokoj s vlastním sociálním zařízením, který byl k celému postupu přizpůsoben, tj. byly instalovány vnitřní i zevní žaluzie, připraveno vnitřní osvětlení v místnosti tak, aby bylo dodržováno požadované osvětlení v jednotlivých dnech po podání Foscanu<sup>®</sup>. V den aplikace je nutno dodržovat osvětlení maximálně 100 lx (lux), každý následující den se osvětlení postupně navyšuje o 100 lx (v den operace je tedy osvětlení 400 lx).

### 7.4.1. Zatemnění (po aplikaci Foscanu<sup>®</sup>)

První den

- Vyhnout se vystavení přímému slunečnímu světlu, zůstat uvnitř tmavší místnosti. Používat žárovky o výkonu 60 W nebo nižší.

2. až 7. den

- Postupně se vracet k normálnímu osvětlení. Chránit se a nevystavovat se i nadále jak přímému světlu procházejícímu oknem ze zevního prostředí, tak i přímému světlu z domácích spotřebičů. Povoleno sledovat televizi. Po soumraku je možno vycházet ven. Pokud je nezbytně nutné vycházet ven při denním světle, je zapotřebí se dostatečně chránit (zakrýt celou kůži včetně tváře a rukou a mít tmavé brýle).

8. až 14. den

- Možno pomalu začít vycházet ven i během denního světla (stále dbát na ochranu oblečením apod.). Venku pobývat nejdříve 10-15 minut, neobjeví-li se do 24 hodin viditelná reakce (zarudnutí kůže), možno pobyt postupně prodlužovat. I tak se vyhnout přímému slunečnímu světlu nebo silnému osvětlení v místnosti. Vyhledávat spíše stín.

Od 15. dne

- Citlivost kůže se vrací do normálu. Doporučeno vyzkoušet nejdříve vystavení světlu vrchní strany ruky po dobu 5 minut, neobjeví-li se zarudnutí, je možno vystavení světlu postupně prodlužovat. Objeví-li se zarudnutí, je třeba se vyhnout přímému světlu dalších 24 hodin (poté lze zkoušku opakovat). Zpočátku nezůstávat na slunečním světle delší dobu než 15 minut (interval pobytu na slunečním světle prodlužovat o 15 minut/den). Většina lidí se k normálnímu režimu vrátí kolem 22. dne.

## 7.5. Hodnocení

Posouzení léčebného účinku - parametry ošetření:

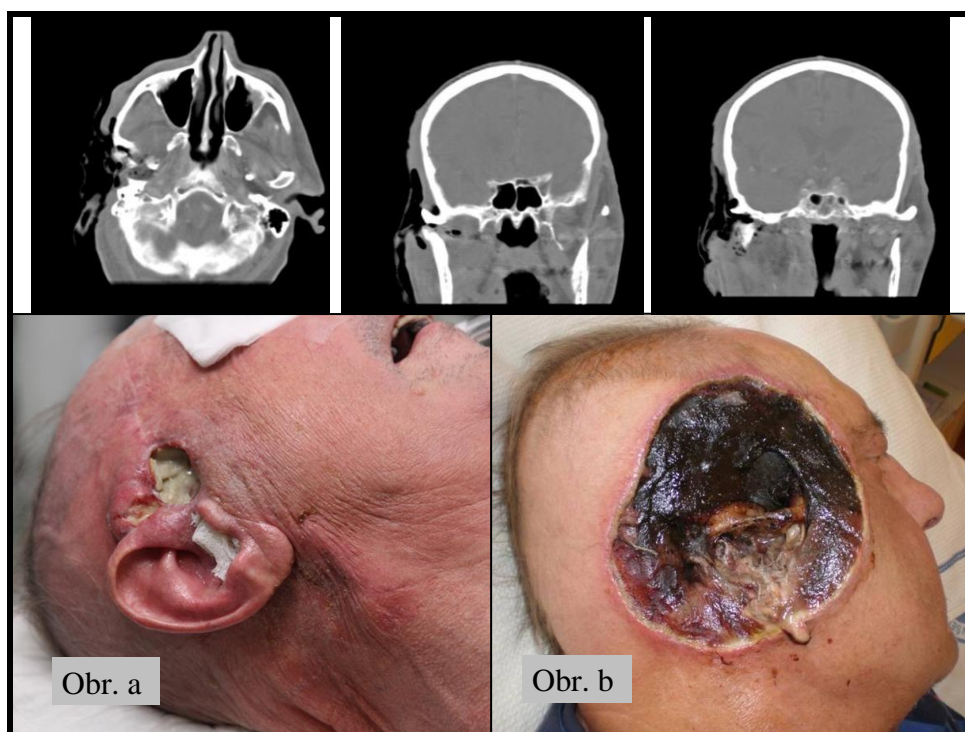
- Kompletní remise (CR, complete response): 100% regrese nádoru v klinické praxi při vyšetření (tj. vizuální prohlídka, palpce).
- Částečná odpověď (PR, partial response): 50-99% regrese plochy nádoru v klinické praxi.
- Žádná odpověď (NC, no change): 0-49% regrese nádoru v klinické praxi při vyšetření.



## 7.6. Kazuistiky

Kazuistika I (viz. obr. 7.3.)

- Pacient mužského pohlaví, věk 75 let.
- 1. pacient, který podstoupil systémovou fotodynamickou terapii (Foscan®) v České republice (2. 5. 2011).
- Primární nádor (recidivující BCC) lokalizován ve spánkové krajině vpravo. Pacient podstoupil resekční výkon. Následující chirurgickou intervenci pacient podstoupil na plastické chirurgii. Pro rozvoj recidivy následovala radioterapie. V léčbě byla využita i intraarteriální chemoterapie. Bohužel dosavadní veškerá terapie byla bez požadovaného léčebného efektu.
- Nádor zasahující pravou tvář, temporální krajinu, zevní zvukovod, usurovaný kloubní výběžek dolní čelisti vpravo. Susp. progresse na bazi lební.
- Hlavní stesk onkologického pacienta: kruté bolesti i přes opiátová analgetika, progresse tumoru.
- Výsledek iPDT: částečná odpověď dle posouzení léčebného účinku (PR). Nejvíce oceňovaným výsledkem léčby byla bezesporu podstatná úleva od bolesti. Pacient po výkonu nemusel užívat naprosto žádná analgetika.
- Pacient zemřel 10 týdnů po operaci. Nutno podotknout, že iPDT výrazně zkvalitnila zbytek života tohoto onkologického pacienta, neboť poslední týdny netrpěl žádnými bolestmi (tj. podařilo se kompletně odstranit stesk - faktor, který pacienta ovlivňoval a obtěžoval nejvíce).



Obr. 7.3. Kazuistika I: Pacient (muž), věk 75 let, zobrazení CT. Obr. a) stav před terapií iPDT, obr. b) stav 1 měsíc po terapii.

Kazuistika II (viz. obr. 7.4.)

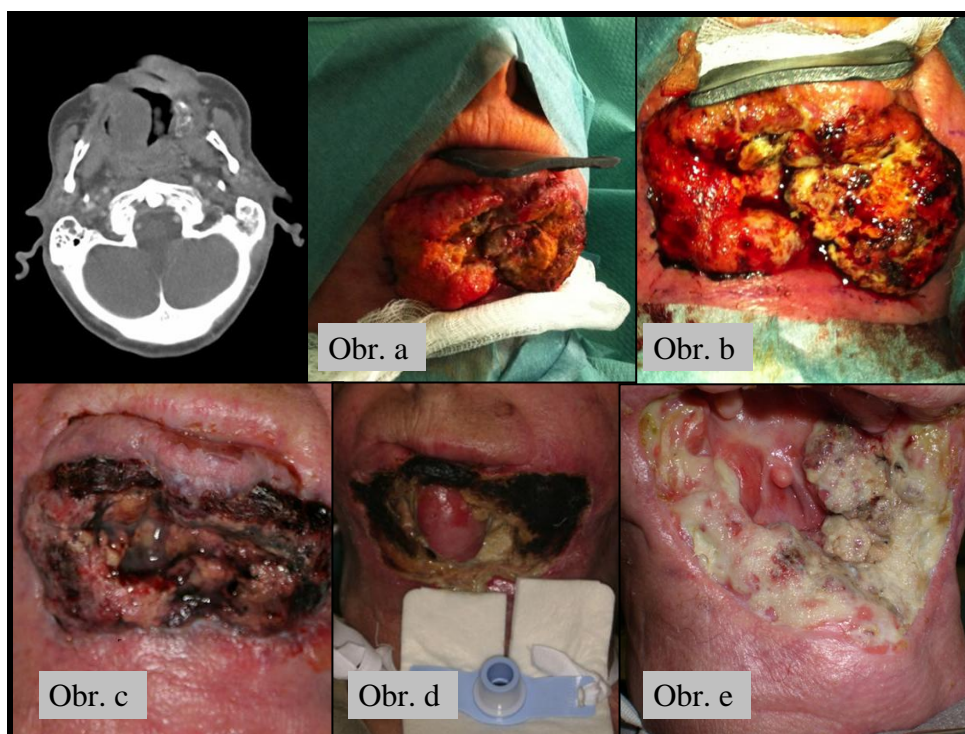
- Pacientka, věk 73 let (Inzulín-dependentní diabetes mellitus).
- Histologie: invazivní bazocelulární karcinom.
- Primární nádor lokalizován v supraorbitální krajině s invazí do horního víčka, v temporální krajině a pretrageální krajině vpravo. Pacientka podstoupila rozsáhlý chirurgický resekční výkon. V rámci paliativní terapie byly prováděny opakovaně laserové ablace.
- Nádor zasahující parotideomaseeterickou krajinu, lícní oblouk, zevní zvukovod, osteolytické změny popisovány v oblasti lícního oblouku a dolní čelisti (kloubní hlavice, krček i vzestupná větev dolní čelisti), zastření mastoidních sklípků.
- Hlavní stesk onkologického pacienta: krvácení z defektu v pretrageální krajině, protruze pravého bulbu, bolesti.
- Operace provedena 7. 11. 2011.
- Výsledek iPDT: částečná odpověď dle posouzení léčebného účinku (PR). Nejvíce oceňovaný výsledek léčby byla úleva od bolesti, zástava krvácení, výrazné zmenšení protruze bulbu.
- Pacientka dosud žije.



Obr. 7.4. Kazuistika II: Pacientka, věk 73 let, zobrazení CT. Obr. a) stav před terapií iPDT, obr. b) 2 týdny po terapii, obr. c) 3 týdny po terapii, obr. d) a e) stav 7 měsíců po terapii.

Kazuistika III (viz. obr. 7.5.)

- Pacient mužského pohlaví, věk 62 let (tracheostomie, PEG).
- Histologie: nízce diferencovaný dlaždicobuněčný karcinom.
- Pacient primárně s inoperabilním karcinomem spodiny dutiny ústní a jazyka. Pacient absolvoval konkomitantní chemoradioterapii. Dále podstoupil 2 cykly chemoterapie (cDDP + 5-FU) a 4 cykly chemoterapie (Taxotere). I přes veškerou terapii byla zaznamenána progresse onemocnění. Onkologickým konziliem byla doporučena paliativní chemoterapie Methotrexate.
- Rozsáhlá tumorózní masa zasahující celou spodinu dutiny ústní včetně jazyka, orofarynx, infiltrace podčelistních uzlin.
- Hlavní stesk onkologického pacienta: progresse tumoru, zápach a krvácení z defektu v oblasti brady.
- Operace provedena 7. 11. 2011.
- Výsledek iPDT: částečná odpověď dle posouzení léčebného účinku (PR). Nejvíce oceňovaný výsledek léčby byla zástava krvácení, zmenšení masy nádoru, odstranění zápach, výrazné zlepšení možnosti samotné péče o defekt, včetně převazů.
- Pacient zemřel 13. 2. 2012.



Obr. 7.5. Kazuistika III: Pacient (muž), věk 62 let, zobrazení CT. Obr. a) stav před terapií iPDT, obr. b) stav ihned po výkonu, obr. c) 3. den po terapii, obr. d) 2 týdny po terapii, e) stav 4 měsíce po terapii.

#### Kazuistika IV

- Pacient mužského pohlaví, věk 60 let (tracheostomie).
- Histologie: recidivující spinocelulární karcinom hrtanu.
- Pacient s nádorovou duplicitou: recidivující karcinom hrtanu. Pacient absolvoval konkomitantní chemoradioterapii. Klasickou chirurgickou intervenci pacient odmítl.
- Recidiva karcinomu hrtanu. Dle PET CT ložisko v levé plicí a mediastinu.
- Hlavní stesk onkologického pacienta: recidiva tumoru, odmítnutí klasické chirurgické intervence.
- Operace provedena 31. 8. 2012.
- Výsledek iPDT: kompletní remise dle posouzení léčebného účinku (CR) - při fibroskopickém vyšetření makroskopicky bez nádoru, histologická kontrola taktéž bez známky malignity.
- Pacient dosud žije.

#### 7.7. Závěr

Závěrem lze konstatovat, že systémová fotodynamická terapie se jeví jako účinná léčebná metoda v paliativní terapii u pacientů s pokročilým nádorovým onemocněním hlavy a krku, u kterých selhaly veškeré možné předchozí terapie, a kteří by tak byli jinak indikováni k symptomatické terapii. Na našem pracovišti jsme dosud provedli 4 výkony s využitím systémové fotodynamické terapie, proto ani nelze vyvozovat žádné obecné závěry a je předtím bezesporu nutné nejprve provést léčbu u daleko většího počtu onkologických pacientů. Již nyní však můžeme říci, že podstatný důraz musí být vždy kladen zejména na správnost indikace k iPDT a na detailní naplánování vlastního terapeutického postupu.

## 8. Závěr

Zavádění laserů do moderní medicíny umožnilo jejich rozšíření téměř do všech oborů. Proto není překvapením, že lasery našly své široké uplatnění i v dentoalveolární a maxilofaciální chirurgii, a to nejen v její „estetické části“, ale i v onkologii. Pro léčbu maligních a benigních novotvarů se v medicíně používá několik metod (chirurgická resekce, chemoterapie, radioterapie, termoterapie apod.), které jsou vesměs spojeny s významnými vedlejšími účinky a s menším či větším omezením kvality života. Proto lékaři hledají co nejméně invazivní metody, které by byly efektivní v léčbě se zachováním komfortu pro pacienta. A právě jednou z těchto možných metod je laserová medicína.

V disertační práci jsme se zaměřili na 3 hlavní tematické oblasti: laserové odstranění orálních leukoplakií, laserovou intersticiální hypertermii, laserem modifikovanou fotodynamickou terapii v léčbě bazocelulárních karcinomů. Tato témata byla zvolena zcela záměrně, neboť orální leukoplakie patří mezi nejčastější prekancerózní léze vyskytující se v dutině ústní. Bazocelulární karcinomy jsou nejčastější kožní nádory, které se vyskytují v oblastech vystavených slunečnímu záření (zejména na hlavě a krku). Laserová intersticiální hypertermie je intervence, která byla aplikována v rámci paliativní terapie u pacientů s pokročilými nádory hlavy a krku, u kterých byly vyčerpány veškeré ostatní možné léčebné metody. Jedná se tedy o onemocnění (prekancerózní stavy a nádory), s kterými se v Centru fotonické medicíny setkáváme nejčastěji.

Styčným bodem této práce bylo využití laserové intervence, konkrétně v našem případě se jednalo o diodový laser s vlnovou délkou 980 nm. Atraktivita tohoto laseru spočívá v jeho lehkosti, dobré přenosnosti, v nižších pořizovacích a provozních nákladech, v delší životnosti a lepší ovladatelnosti díky flexibilnímu laserovému vláknu. Nutno dodat, že pacienti snášeli laserovou intervenci prostřednictvím aplikace diodového laseru v průběhu všech studií velmi dobře (viz jednotlivé studie).

Dosáhli jsme úspěšných výsledků jak v terapii leukoplakií, tak v modifikované fotodynamické terapii v léčbě bazocelulárních karcinomů. Pozitivní změny sledovaných parametrů ukazují, že LITT najde své uplatnění v paliativní terapii pacientů s pokročilými nádory hlavy a krku. Dosažené výsledky ve všech třech tematických oblastech této práce potvrzují platnost hypotézy, kterou jsme si stanovili na začátku našeho bádání. Tudíž můžeme závěrem konstatovat, že laserová intervence může být efektivní v terapii vybraných malignit a premalignit hlavy a krku.



## 9. Literatura

1. Laser. Wikipedie. <http://cs.wikipedia.org/wiki/Laser>
2. Mazánek J, Urban F. Stomatologické repetitorium. Grada. Praha 2003.
3. Jawad MM, Qader STA, Zaidan AA, Zaidan BB, Naji AW, Qader ITA. An Overview of Laser Principle, Laser-Tissue Interaction Mechanisms and Laser Safety Precautions for Medical Laser Users. *Int J Pharmacol* 2011; 7(2):149-160.
4. Pokorný J, Köhler O, Hanuš T. Laser v endourologii. *Endoskopie* 2008;17:74-79.
5. Einstein A. Zur Quantentheorie der Strahlung. *Phys Z* 1917;18:121-128.
6. Maiman TH. Stimulated Optical Radiation in Ruby. *Nature* 1960; 187:493-494.
7. Schawlow AL, Townes CH. Infrared and optical masers. *Phys Rev* 1958; 112:1940-1949.
8. Gross AJ, Hermann TRW. History of lasers. *World J Urol* 2007; 25:217-220.
9. Campbell CJ, Koester C, Curtice V, Noyori K, Rittler MC. Clinical studies in laser photocoagulation. *Arch Ophthalmol* 1965; 74:57-65.
10. Šmucler R. Terapeutické využití laserů v orofaciální onkologii. Praha 2009. Habilitační práce.
11. Patel CK, Mc Farlane RA, Faust WL. Selective excitation through vibrational energy transfer and optical maser action in N<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub>. *Physiol Rev* 1964; 13:617-619.
12. Brychta P, Stanek J et al. Laserová estetická chirurgie. Galén. 2000.
13. Gross AJ, Hermann TRW. History of lasers. *World J Urol* 2007; 25:217-220.
14. Sivaprasad S, Elagouz M, McHugh D, Shona O. Micropulsed Diode Laser Therapy: Evolution and Clinical Applications. *Surv Ophthalmol* 2010; 55:516-530.
15. <http://www.therapy.cz/fyzikalni-parametry.laseru.php>
16. Knappe V, Frank F, Rohde E. Principles of Lasers and Biophotonic Effects. *Photomed Laser Surg* 2005;22:411-417.
17. Goldberg SN. Radiofrequency tumor ablation: principles and techniques. *European Journal of Ultrasound* 2001;13:129-147.
18. Niemz MH. Laser-Tissue Interactions: Fundamentals and Applications. 3rd Edn., Springer. Germany. 2004.
19. Mazánek J. Nádory orofaciální oblasti. Victoria Publishing, East Publishing. Praha 1997.
20. World Health Organization Collaborating Centre for Precancerous Lesions. Definition of leukoplakia and related lesions: an aid to studies on oral precancer. *Oral Surg* 1978;46:518-9.
21. Petti S. Pooled estimate of world leukoplakia prevalence: a systematic review. *Oral Oncol* 2003;39:770-780.
22. Axel T, Pindborg JJ, Smith CJ, van der Waal I. Oral white lesions with special reference to preprecancerous and tobacco-related lesions;conclusions of an international symposium held in Uppsala, Sweden, May 18-21 1994, International Collaborative group on Oral White Lesions. *J Oral Pathol Med* 1996;25:49-54
23. Warnakulasutiya A. Lack of molecular markers to predict malignant potencial of oral precancer *J Pathol* 2000;190:407-409.
24. vanderWaal I, Schepman KP, vanderMeij EH, Semele LE. Oral leukoplakia: a clinicopathological review. *Oral Oncol* 1997;33:291-301.
25. Lee JJ, Hong WK, Hittelman WN, Mao L, Lotan R, Shin DM, Benner SE, Xu XC, Lee JS, Papadimitrakopoulou VM, Geyer C, Perez C, Martin JW, El-Naggar AK,

- Lippman SM. Predicting cancer development in oral leukoplakia: Ten years of translational research. *Clinical Cancer Research* 2000;6:1702-1710.
26. Vivek V, Jayasree RS, Balan A, Sreelatha KT, Gusta AK. Three-year follow-up of oral leukoplakia after neodymium: yttrium aluminium garnet (Nd:YAG) laser surgery. *Lasers Med Sci* 2008;23:375-379.
  27. Holmstrup P, Vedtofte P, Rebel J, Stolte K. Long-term treatment outcome of oral premalignant lesions. *Oral Oncol* 2006;42:461-474.
  28. Einhorn J, Wersall J. Incidence of oral carcinoma in patients with leukoplakia of oral mucosa. *Cancer* 1967;20:2189-2193.
  29. Yen AM, Chen SC, CHen TH. The effect of betel quid and cigarette on multistate progression of oral premalignancy. *J Oral Pathol Med* 2008;37:417-422.
  30. Maserejian NN, Giovannucci E, Rosner B, Joshipur K. Prospective study of vitamins C, E, and A and carotenoids and risk of oral premalignant lesions in men. *Int J Cancer* 2007;120:970-977.
  31. Belevi B. Evidence-based decision-making: Should the general dentist adopt the use of the VELscope for routine screening for oral cancer? *J Can Dental Assoc* 2007;73:603-606.
  32. Pindborg JJ, Barmes D, Oedpete B. Epidemiology and histology of oral leukoplakia and leukoedema among Papuans and New Guineans. *Cancer* 1968;22:379-384.
  33. Liška K. Leukoplakie . *Orofaciální patologie*, Avicenum, 1983;str. 96-101.
  34. Pandey M, Thomas G, Somanathan T, Sankaranarayanan R, Abraham EK, Jacob BJ, Mathew B. Evaluation of surgical excision of nonhomogeneous oral leukoplakia in a screening intervention trial, Kerala, India. *Oral Oncol* 2001;37:102-109.
  35. Saito T, Sugiura C, Hirai A, Notani K, Totsuka Y, Shindoh M, Fukuda H. Development of squamous cell carcinoma from pre-existent oral leukoplakia: with respect to treatment modality. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2001;30:49-53.
  36. Ishii J, Fujita K, Munemoto S, Komori T. Management of oral leukoplakia by laser surgery: relation between recurrence and malignant transformation and clinicopathological features. *J Clin Laser Med Surg* 2004;22:27-33.
  37. Ishii J, Fujita K, Komori T. Laser surgery as a treatment for oral leukoplakia. *Oral Oncol* 2003;39:759-769.
  38. Hamadah O, Thomson PJ. Factors affecting carbon dioxide laser treatment for oral precancer: A patient cohort study. *Lasers Surg Med* 2009;41:17-25.
  39. Gooris PJJ, Roodenburg JLN, Fermež A, Nauta JM. Carbon dioxide laser evaporation of leukoplakia of the lower lip: a retrospective evaluation. *Oral Oncol* 1999;35:490-497.
  40. Schepman KP, van der Waal I. A proposal for a classification and staging system for oral leukoplakia: a preliminary study. *Oral Oncol, Eur J Cancer* 1995;31B:396-398.
  41. Ben-Bassat M, Kaplan I, Shindel Y, Edlan A. The CO2 laser in surgery of the tongue. *Brit J Plast Surg* 1978;31:155-156.
  42. Martorell-Calatayud A, Botella-Estrada R et al.: Oral leukoplakia: clinical, histopathologic, and molecular features and therapeutic approach. *Actas Dermosifiliogr* 2009;100(8): 669-684.
  43. Scheifele C, Reichart PA. Is there a natural limit of the transformation rate of oral leukoplakia? *Oral Oncol* 2003;39:470-475.
  44. Scully C. Oral precancer: preventive and medical approaches to management. *Eur J Cancer B Oral Oncol* 1995; 31B(1):16-26.

45. Vogl TJ, Lee C, Nour-Eldin NE, Farshid P, Mack MG, Balzer J. Interventional tumor destruction by thermal procedures. *Oncol* 2010;16:1086-1094.
46. Nikfarjam M, Muralidharan V, Christophi C. Mechanisms of Focal Heat Destruction of Liver Tumours. *J Surg Res* 2005;127:208-223.
47. Jiang SC, Zhang XX. Effects of dynamic changes of tissue properties during laser-induced interstitial thermotherapy (LITT). *Lasers Med Sci* 2005;19:197-202.
48. Bown SG. Phototherapy of tumours. *World J Surg* 1983; 7:700.
49. Goldberg SN, Gazelle GS, Mueller PR. Thermal Ablation Therapy for Focal Malignancy: A Unified Approach to Underlying Principles, Techniques, and Diagnostic Imaging Guidance. *AJR* 2000;174:323-331.
50. Masters A, Bown SG. Interstitial Laser Hyperthermia in the Treatment of Tumours. *Lasers Med Sci* 1990;5:129-136.
51. Hand JW, Ter-Haar G. Heating techniques in hyperthermia. *Br J Radiol* 1981;54:443-466.
52. Bozkulak O, Tabakoglu HO, Aksoy A, Kurtkaya O, Sav A, Canbeyli R, Gulsoy M. The 980-nm diode laser for brain surgery: histopathology and recovery period. *Lasers Med Sci* 2004;10:41-47.
53. Goldberg SN. Radiofrequency tumor ablation: principles and techniques. *European Journal of Ultrasound* 2001;13:129-147.
54. Roggan A, Minet O, Schröder C, Müller G. Measurements of optical properties of tissue using integrating sphere technique. In: Müller G, Beuthan F, Minet O. editors. *Medical optical tomography: functional imaging and monitoring*. Bellingham, WA: SPIE Press; 1993. p 149-165.
55. Ritz JP, Roggan A, Germer CT, Isbert C, Müller G, Buhr HJ. Continuous Changes in the Optical Properties of Liver Tissue During Laser-Induced Interstitial Thermotherapy. *Lasers Surg and Med* 2001;28:307-312.
56. Nikfarjam M, Cristophi C. Interstitial laser thermotherapy for liver tumours. *Br J Surg* 2003;90:1033-1047.
57. McNichols RJ, Gowda A, Kangasniemi M, Bankson JA, Price RE, Hazle JD. MR Thermometry-Based Feedback Control of Laser Interstitial Thermal Therapy at 980 nm. *Lasers Surg Med* 2004;34:8-55.
58. Menovsky T, Beek JF, van Gemert MJC, Roux FX, Bown SG. Interstitial Laser Thermotherapy in Neurosurgery: A Review. *Acta Neurochir* 1996;138:1019-1026.
59. Diederich CJ, Hynynen K. Ultrasound technology for hyperthermia. *Ultrasound Med Biol* 1999;25:871-887.
60. Mack MG, Vogl TJ, Eichler K, Miller P, Strub R, Roggan A, Felix R. Laser-induced thermoablation of tumours of the head and neck under MR tomographic control. *Min Invas Ther & Allied Technol* 1998;7/6:573-579.
61. Holme C., Lehmann KS, Risk J, Roggan A, Germer C-T, Reissfelder C., Isbert C, Buhr HJ, Ritz J-P. Colorectal Tumors and Hepatic Metastases Differ in Their Optical Properties-Relevance for Dosimetry in Laser-induced Interstitial Thermotherapy. *Lasers Surg and Med* 2006;38:296-304.
62. Heisterkamp J, van Hillegersberg R, Ijzermans JNM. Interstitial laser coagulation for hepatic tumours. *British Journal of Surgery* 1999;86:293-304.
63. Christophi C, Nikfarjam M, Malcontenti-Wilson C. Long-term Survival of Patients with Unresectable Colorectal Liver Metastases treated by Percutaneous Interstitial Laser Thermotherapy. *World J Surg* 2004;28:987-994.
64. Sugiyama K, Sakai T, Fujishima I, Ryu H, Uemura K, Yokoyama T. Stereotactic interstitial laser-hyperthermia using Nd:YAG laser. *Stereotact Funct Neurosurg* 1990;54-55:501-505.



65. Menovsky T, Beek JF, Roux FX, Bown SG. Interstitial laser thermotherapy: Developments in the treatment of small deep-seated brain tumors. *Surg Neurol* 1996;46:568-572.
66. Schulze PC, Vitzhum HE, Goldammer A, Schneider JP, Schober R. Laser-induced thermotherapy of neoplastic lesions in the brain – underlying tissue alterations, MRI-monitoring and clinical applicability. *Acta Neurochir* 2004;146:803-812.
67. Roux FJ, Devaux B, Mordon S, Nguyen S, Chodkiewicz. The use of 1.32 Nd:YAG laser in neurosurgery: Experimental data and clinical experience from 70 patients. 1990; 8:55-61.
68. Schwarzmaier HJ, Eickmeyer F, von Tempelhoff W, Fiedler VU, Niehoff H, Ulrich SD, Yang Q, Ulrich F. MR-guided laser-induced interstitial thermotherapy of recurrent glioblastoma multiforme: Preliminary results in 16 patients. *Eur J Radiol* 2006;59:208-215.
69. Tunuguntla HSGR, Evand CP. Minimally invasive therapies for benign prostatic hyperplasia. *World J Urol* 2002;20:197-206.
70. Kursch ED, Concepcion R, Chan S, Hudson P, Ratner M, Eyre R. Interstitial laser coagulation versus transurethral prostate resection for treating benign prostatic obstruction: a randomized trial with 2-years follow-up. *Urology* 2003;61:573-578.
71. Courtney ED, Raja A, Leicester RJ. Eight years experience of high-powered endoscopic diode laser therapy for palliation of colorectal carcinoma. *DISEASES OF THE COLON&RECTUM* 2005;48:845-850.
72. Black RJ, Bray F, Ferley J, Parkin DM. Cancer incidence and mortality in the European Union: cancer registry data and estimates of national incidence for 1990. *Eur J Cancer* 1997;33:1075–107.
73. Parkin DM, Whelan SL, Ferlay J, Raymond L, Young J, eds. Cancer incidence in five continents, vol VII. IARC Scientific Publications no. 143. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 1997.
74. Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Estimates of the worldwide incidence of 25 major cancers in 1990. *Int J Cancer* 1999;80:827– 41.
75. Ferlay J, Parkin DM, Pisani P. *Globocan 1: cancer incidence and mortality worldwide*. Lyon: IARC Press, 1998.
76. Schmidt W, Popham RE. The role of dribbling and smoking in mortality from cancer and other cause in male alcoholics. *Cancer* 1981;47:1031-1041.
77. Fein DA, Mendenhall WM, Parsons JT, McCarty PJ, Stringer SP, Million RR, Cassisi NJ. Carcinoma of the oral tongue: a comparison of results and complications of treatment with radiotherapy and/or surgery. *Head Neck* 1994;16:358-365.
78. Vogl TJ, Mack MG, Straub R, Eichler K, Zangos S. MR-Quided Laser-Induced Thermotherapy of the Infratemporal Fossa and Orbit in Malignant Chondrosarcoma via a Modified Technique. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2001;24:432-435.
79. Šmucler R, Mazánek J. Paliativní terapie krčních metastáz pomocí laser indukované hypertermie. 2002 *Čes. Stomat.*;2002;102:217-223.
80. Šmucler R, Mazánek J. Effect of the Combination of Laser Excision and Interstitial Hyperthermia in Palliative Therapy of Head and Neck Tumours in the Advanced Stage of the Disease. *Lasers Surg Med* 2004;34:12-17.
81. Wohlgemuth WA, Wamser G, Weiss T, Wagner T, Bohndorf K. In Vivo Laser-Induced Interstitial Thermotherapy of Pig Liver With a Temperature-Controlled Diode Laser and MRI Correlation. *Lasers Surg and Med* 2001;29:374-378.

82. Bown SG. Science, medicine, and the future: new techniques in laser therapy. *BMJ* 1998;316(7133):754–757.
83. Braathen LR, Szeimies RM, Basset SN et al. Guidelines on the use of photodynamic therapy for nonmelanoma skin cancer: an international consensus. *J Am Acad Dermatol* 2007;56:125-143.
84. Kennedy JC, Portiér R, Pross DC. Photodynamic therapy with endogenous protoporphyrin IX: basic principles and present clinical experiences. *J Photochem Photobiol B* 1990;6:143-148.
85. Gold MH (ed.) *Photodynamic Therapy in dermatology*. Springer 2011.
86. Hausmann W. Die sensibilisierende Wirkung des Hematoporphyrines. *Biochem Ztsch* 1911, 30:276-316.
87. Lipson RL, Baldes EJ, Olsen AM. The use of haematoporphyrin derivate in tumor detection. *J Natl Cancer Inst* 1961;26:1-11.
88. Lipson RL, Baldes EJ, Olsen AM. Further evaluation of Haematoporphyrin derivate as a new aid for the endoscopic detection of malignant disease. *Chest* 1964;46:676-679.
89. Dougherty TJ, Kaufman JE, Goldfarb A et al. Photoradiation therapy for treatment of malignant tumours. *Cancer Res* 1978;38:2628-2635.
90. Dougherty TJ. Photoradiation therapy for cutaneous and subcutaneous malignancies. *J Invest Dermatol* 1981;77:122-124.
91. Kennedy JC. Photodynamic Therapy with endogenous protoporphyrin IX: basic principles and present clinical experiences. *J Photochem Photobiol B* 1990;6:143-148.
92. Dougherty TJ, Gomer CJ, Henderson BW, et al. Photodynamic therapy. *J Natl Cancer Inst* 1998;90:889-905.
93. Juarranz A, Jaén P, Sanz-Rodríguez F, Cuevas J, González S. Photodynamic therapy of cancer. Basic principles and applications. *Clin Trans Oncol* 2008;10:148154.
94. Vogl TJ, Eichler K, Mack MG, Zangos S, Herzog C, Thalhammer A, Engelmann K. Interstitial photodynamic laser therapy in interventional oncology. *Eur Radiol* 2004;14:1063-1073.
95. Jerjes W, Upile T, Hamdoon Z, Nhembe F, Bhandari R, Mackay S, Shah P, Moose CA, Brookes JAS, Morley S, Hopper C. Ultrasound-Guided Photodynamic Therapy for Deep Seated Pathologies: Prospective Study. *Lasers Surg Med* 2009;41:612-621.
96. Grant WE, Speight PM, Hopper C, Bown SG. Photodynamic therapy: an effective, but non-selective treatment for superficial cancers of the oral cavity. *Int J Cancer* 1997;71:937-942.
97. Jerjes W, Upile T, Akram S, Hopper C. The surgical Palliation of Avanced Head and Neck Cancer using Photodynamic Therapy. *Clinical Oncol* 2010;22:785-791.
98. Fan KFM, Hopper C, Speight PM, Buonaccorsi G, MacRobert AJ, Bown SG. Photodynamic therapy Using 5-Aminolevulinic Acid for Premalignant and Malignant Lesions of the Oral Cavity. *Cancer* 1996;78:1374-1383.
99. Grant WE, Hopper C, MacRobert AJ, Speight PM, Bown SG. Photodynamic therapy of oral cancer :photosensitisation with systematic aminolaevulinic acid. *Lancet* 1993;342:147-148.
100. Biel M. Advanced in Photodynamic Therapy for the Treatment of Head and Neck Cancers. *Lasers Surg and Med* 2006;38:349-355.
101. Lou PJ, Jones L, Hopper C. Clinical outcomes of photodynamic therapy for head-and-neck cancer. *Technol Cancer Res Treat* 2003;2:311–317.

102. Kübler AC, Haase T, Staff C, Kahle B, Rheinwald M, Mühling J. Photodynamic Therapy of Primary Nonmelanomatous Skin Tumours of the Head and Neck. *Lasers Surg and Med* 1999;25:60-68.
103. Choudhary S, Nouri K, Elsaie ML. Photodynamic therapy in dermatology: a review. *Lasers Med Sci* 2009;24:971-980.
104. Barber P, Barr H, George J, Krasner N, Morris AI, Sutedja TG. Photodynamic Therapy in the Treatment of Lung and Oesophageal Cancers. *Clinical Oncology* 2002;14:110-116.
105. Krasner N, Chatkani PT, Barr H. Photodynamic Therapy of Tumours in Gastroenterology---a Review. *Lasers Med Sci* 1990;5:233-239.
106. Betz CS, Jäger HR, Brookes JAS, Richards R, Leunig A, Hopper C. Interstitial Photodynamic Therapy for a Symptom-Targeted Treatment of Complex Vascular Malformations in the Head and Neck Region. *Lasers Surg and Med* 2007;39:571-582.
107. Jerjes W, Upile T, Hamdoon Z, Mosse CA, Akram S, Morley S, Hopper C. Interstitial PDT for Vascular Anomalies. *Lasers Surg Med* 2011;43:357-365.
108. Jerjes W, Upile T, Hamdoon Z, Mosse CA, Akram S, Hooper C. Photodynamic Therapy Outcome for Oral Dysplasia. *Lasers Surg Med* 2011;43:192-199.
109. Jerjes W, Upile T, Petrie A, Riskalla A, Hamdoon Z, Vourvachis M, Karavidas K, Jay A, Sandison A, Thomas GJ, Kalavrezos N, Hopper C. Clinicopathological parameters, recurrence, locoregional and distant metastasis in 115 T1-T2 oral squamous cell carcinoma patients. *Head & Neck Oncol* 2010;2:9.
110. Marsh D, Suchak K, Moutasim KA, Vallath S, Hopper C, Jerjes W, Upile T, Kalavrezos N, Violette SM, Weinreb PH, Chester KA, Chana JS, Marshall JF, Hart IR, Hackshaw AK, Piper K, Thomas GJ. Stromal features are predictive of disease mortality in oral cancer patients. *J Pathol* 2011;223:470-481.
111. Jerjes W, Upile T, Hamdoon Z, Mosse CA, Morcos M, Hopper C. Photodynamic Therapy Outcome for T1/T2 N0 Oral Squamous Cell Carcinoma. *Lasers Surg Med* 2011;43:463-469.
112. Watson JC, Ridge JA. Surgical management of local and regional recurrent head and neck squamous cell carcinoma. *Curr Opin Oncol* 1998;10(3):207-212.
113. Bagan JV, Scully C. Recent advances in oral oncology 2007: epidemiology, aetiopathogenesis, diagnosis and prognostication. *Oral Oncol* 2008;44:103-108.
114. Warnakulasuriya S. Global epidemiology of oral and oropharyngeal cancer. *Oral Oncol* 2009;45:309-316.
115. Garzino-Demo P, Dell'Acqua A, Dalmasso P, Fasolis M, La Terra Maggiore GM, Ramieri G, Berrone S, Rampino M, Schena M. Clinicopathological parameters and outcome of 245 patients operated for oral squamous cell carcinoma. *J Craniomaxillofac Surg* 2006;34(6):344-350.
116. Hopper C, Niziol C, Sidhu M. The cost-effectiveness of Foscan mediated photodynamic therapy (Foscan-PDT) compared with extensive palliative surgery and palliative chemotherapy for patients with advanced head and neck cancer in the UK. *Oral Oncology* 2004;40:372-382.
117. EMEA. Committee for medicinal products for human use European public assessment report (EPAR): Foscan. 2001; 1-2.
118. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (2001) Foscan: Summary of product characteristics.
119. Jäger HR, Taylor MN, Theodossy T, Hopper C. MR Imaging-Guided Interstitial Photodynamic Laser Therapy for Advanced Head and Neck Tumors. *Am J Neuroradiol* 2005;26:1193-1200.

120. Hopper C. Photodynamic therapy: A clinical reality in the treatment of cancer. *Lancet Oncol* 2000;1:212–219.] [Jerjes W, Upile T, Hamdoon Z, Nhembe F, Bhandari R, Mackay S, Shah P, Moose CA, Brookes JAS, Morley S, Hopper C. Ultrasound-Guided Photodynamic Therapy for Deep Seated Pathologies: Prospective Study. *Lasers Surg Med* 2009;41:612-621.
121. Ochsler M. Photodynamic Therapy the clinical perspective (Review) *Arzneim Forsch/Drug Res* 1997;47:1185-1194.
122. Jerjes W, Upile T, Hamdoon Z, Abbas S, Akram S, Mosse CA, Morley S, Hopper C. Photodynamic Therapy: The Minimally Invasive Surgical Intervention for Advanced and/or Recurrent Tongue Base Carcinoma. *Lasers Surg and Med* 2011;43:283-292.
123. Sudhoff H, Stone N, Kendall C, Fischer S, MacRobert AJ, Leunig A, Olivo M, Richards-Kortum R, Soo KC, Bagnato V, Choo-Smith L-P, Svanberg K, Tan IB, Wilson BC, Wolfson H, Bitko I, Yodh AG, Hopper C. At the frontiers of surgery: review. *Head & Neck Oncol* 2011;3:7.
124. Swinson B, Jerjes W, El-Maaytah M, Norris P, Hopper C. Optical techniques in diagnosis of head and neck malignancy. *Oral Oncol* 2006; 42:221-228.
125. Ahmadi S, McCarron PA, Donnelly RF, Woolfson AD, McKenna K. Evaluation of the penetration of 5-aminolevulinic acid through basal cell carcinoma: A pilot study. *Exp Dermatol* 2004;13:445–451.
126. D'Cruz AK, Robinson MH, Biel MA. mTHPC-mediated photodynamic therapy in patients with advanced, incurable head and neck cancer: A multicenter study of 128 patients. *Head Neck* 2004;26:232–240.
127. Šmucler R, Kříž M, Lippert J, Vlk M. Ultrasound guided ablative-laser assisted photodynamic therapy ob basal cell carcinoma (US-aL-PDT). *Photomed Laser Med* 2012;7:118-123.
128. Betz CS, Rauschnig W, Stranadko EP, Riabov MV, Albrecht V, Nifantiev NE, Hopper C. Optimization of Treatment Parameters for Foscan<sup>®</sup>-PDT of Basal Cell Carcinomas. *Lasers Surg and Med* 2008;40:300-311.
129. Preston DS, Stern RS. Non melanom cancer of the skin. *Lancet* 1992;327:1649-1662.
130. Karagas M, Stukel T, Greenberg R, Baron J, Mott L, Stern R. Risk of subsequent basal cell karcinoma and squamous cell carcinoma of the skin among patients with prior skin cancer. *JAMA* 1992;267:3305-3310.
131. Telfer NR, Colver GB, Morton SA. Guidelines for the management of basal cell carcinoma. *Br J Dermatol* 008;159:35-48.
132. Nestor MS, Gold MH, Kauvar AN, Taub AF, Geronemus RG, Ritvo EC, Goldman MP, Gilbert DJ, Rochet DF, Alster TS, Anderson RR, Bank DE, Carruthers A, Carruthers J, Goldberg DJ, Hanke CW, Lowe NJ, Pariser DM, Rigel DS, Robins P, Spenser JM, Zelickson BD. The use of photodynamic therapy in dermatology: results of a consensus conference. *J Drugs Dermatol* 2006;5(2):140-154.
133. Ackroyd R, Kelty C, Brown N, Reed M. The history of photodetection and photodynamic therapy. *Photochem Photobiol* 2001;74(5):656-669.

## Seznam publikací doktoranda

### 1. publikace in extenso, které jsou podkladem disertace

#### a) s IF

- Vlk M., Šmucler R. The efficacy of diode laser removal of leukoplakias on the tongue and in lower buccal cavity compared to other buccal cavity locations. A two-year study. Central European Journal of Medicine, roč. 8, č. 2, 2013, str. 192-203, 2013, **IF 0,312** (v roce 2011).
- Šmucler R., Vlk M., Combination of Er:YAG laser and Photodynamic therapy in treatment of Nodular Basal Cell Carcinoma, Lasers in Surgery and Medicine roč. 40, č.2, 2008, str. 153-158, **IF=3,539**.
- Šmucler R., Kříž M., Lippert J., Vlk M, Ultrasound Guided Ablative-Laser Assisted Photodynamic Therapy of Basal Cell Carcinoma (US-al-PDT), Photomedicine and Laser Surgery, roč. 30, č. 4, 2012, str. 200-205, **IF 1,255** (v roce 2011).

#### b) bez IF

- Vlk M., Šmucler R., Zvýšení účinku fotodynamické terapie na bazocelulární karcinom synchronní aplikací pulzního barvivového laseru, Česká stomatologie a Praktické zubní lékařství, roč. 108, č. 3, 2008, str. 67-71.

### 2. publikace in extenso bez vztahu k tématu disertace

#### a) s IF

- Foltán R., Pretl M., Donev F., Hoffmannová J., Vlk M., Šonka K., Maxillomandibular advancement v terapii obstrukčního spánkového apnoického syndromu. Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie, roč. 68/101, No. 6, 2005, str. 412- 418, **IF=0.070**.
- Foltán R., Hoffmannová J., Donev F., Vlk M., Šonka K., Pretl M., Advancement musculus genioglossus a závěs jazyky v terapii obstrukčního spánkového apnoického syndromu. Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie, roč. 69/102, č. 1, 2006, str. 57-63, **IF=0,045** (2006).
- Foltán R., Hoffmannová J., Pretl M., Donev F., Vlk M., Genioglossus Advancement and Hyoid Myotomy in Treating Obstructive Sleep Apnoea Syndrom- a folow-up study, Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery, roč. 35, č. 4-5, 2007, str. 246-251, **IF=0.955**.
- Foltán R., Hoffmannová J., Donev F., Vlk M., Šedý J., Kufa R, Bulík O., The Impact of Le Forte I advancement and Bilateral Sagittal Split Osteotomy Setback on Ventilation During Sleep, International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, roč. 38, č. 10, 2009, str. 1036-1040, **IF=1,444** (2009).
- Hoffmannová J., Foltán R., Vlk M., Šipoš M., Horká E., Pavlíková G., Kufa R., Bulík O., Šedý J., Hemimandibulectomy and therapeutic neck dissection with radiotherapy in the treatment of oral squamous cell carcinoma involving mandible: a critical review of treatment protocol in years 1994-2004, International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, roč. 39, č. 6, 2010, str. 561-567, **IF=1,444** (JUN 2010).

- Nieblerová J., Foltán R., Hanzelka T., Pavlíková G., Vlk M., Klíma K., Samsonyan L., Stability of miniplate osteosynthesis used for sagittal split osteotomy for closing an anterior open bite: an experimental study in mini-pigs, International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, roč. 41, č. 4, str. 482-488, 2012, **IF 1,506** ( v roce 2011).

b) bez IF

- Foltán R., Pretl M., Donev F., Hoffmannová J., Vlk M., Šonka K., Mazánek J., Rambousek P., Changing of facial skeleton for treatment of obstructive sleep apnea syndrome. Prague Medical Report, vol. 106 (2005) No. 2, p. 149- 158.
- Hoffmannová J., Foltán R., Vlk M., Klíma K., Pavlíková G., Bulík O., Factors Affecting the Stability of Bilateral, Sagittal Split Osteotomy of a Mandibule, Prague Medical Report ( Sborník lékařský), roč., 109, č. 4, 2009, str. 286-297.
- Šmucler R., Vlk M., Kterak lasery proměnily stomatologii, Medicína a umění. Roč.X, č.5. 2010, str. 22-23.
- Šmucler R., Vlk M., Aktuální trendy v minimálně invazivní terapii vaskulárních novotvarů obličeje, Česká stomatologie a Praktické zubní lékařství, roč. 111, č. 5, 2011 str. 130-130.

## Ocenění

Cena ministra zdravotnictví České republiky za rok 2008 (za mimořádně úspěšné řešení výzkumného projektu: „Kombinace výkonových laserů a fotodynamické terapie v terapii novotvarů hlavy a krku“).